PI
ED '61

COMMONWEALTH INST.
ENTOMOLOGY LIBRARY
12 NOV 1956
SERIAL C.S.A.T.
SEPARATE

Junho, 1956
Tomo 54
Fascículo 1

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Brasil

CONTEÚDO

Veloso, H.P., P. Fontana Jr., R.M. Klein e R.J. de Siqueira-Joccoud — Os anofelinos do sub-gênero Kerteszia em relação à distribuição das bromeliáceas em comunidades florestais do município de Brusque, Estado de Santa Catarina 1

Cabral, A.S. — Notas sôbre o Pneumocystis carinii. Raridadade atual dêste parasito em animais de laboratório 87

Moreira, C.A. — Notas sôbre a evolução do virus vacínico em animais silvestres da fauna brasileira 93

Cardoso, H.T. e N.B. Gonçalves — Ensaios sôbre a desidrogenação do limoneno 95

Siqueira-Joccoud, R.J. de — Contribuição para o estudo da Euphorbia brasiliensis Lam. 103

Dias, E. — Observações sôbre a eliminação de dejeções e tempo de sucção em alguns triatomíneos sul-americanos 115

Wanick, L.R. — Sôbre a histogênese do mioblastoma de células granulares do apêndice. Apresentação de um caso 125

Barth, R. — Estudos anatômicos e histológicos sôbre a sub-família Triatominae (Heteroptera, Reduviidae). V. Parte: Anatomia do testículo e espermiocitogênese do Triatoma infestans 135

Uebersetzung. Anatomische und histologische Studien ueber die Unterfamilie Triatominae (Heteroptera, Reduviidae). V Teil: Bau des Hodens und die Spermiocytogenese von Triatoma infestans 190

Barth, R. e D. Lacombe — Contribuição ao estudo histológico do intestino médio dos insetos. Observações no intestino de uma larva de Blepharoceridae 231

Uebersetzung. Beitraege zur Histologie des Mitteldarms der Insekten. Untersuchungen am Darm einer Blepharoceridenlarve 246

Romaña, C. — Acerca del ciclo evolutivo del Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi Chagas 1909, en sus fases tisular y hematica 255

Fenner, F. — Evolutionary aspects of Myxomatosis in Australia 271

Magalães, O. de — Contribuição para o conhecimento das doenças do grupo tifo exantemático no Brasil 279

Dias, E. — O Centro de Estudo e Profilaxia de Moléstia de Chagas, em Bambuí, Estado de Minas Gerais. Notícia histórica em homenagem ao Professor Henrique Aragão 309

Barth, R. Estudos histológicos das células glandulares dos insetos peçonhentos. IV parte: As cerdas dos espinhos da lagarta de Sibine nesea 359

Uebersetzung. Histologische Untersuchungen an den Druesenzellen giftfuehrender Insekten. IV. Die Borsten der Dornen der Raupe von Sibine nesea 268

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo 54 Fascículo 1 Junho de 1956

ÊSTE FASCÍCULO, COMO O ANTERIOR, COMPREENDE TRABALHOS FEITOS EM HOMENAGEM AO PROFESSOR DR. HENRIQUE ARAGÃO, POR OCASIÃO DO QÜINQUAGESIMO ANIVERSÁRIO DE SUAS ATIVIDADES OFICIAIS.

Os anofelinos do sub-gênero Kerteszia em relação à distribuição das bromeliáceas em comunidades florestais do município de Brusque, Estado de Santa Catarina[*]

Henrique P. Veloso
Instituto Oswaldo Cruz

Pedro Fontana Junior
Instituto Oswaldo Cruz

Roberto M. Klein
Itajaí (Sta. Catarina)

R. J. de Siqueira-Jaccoud
Instituto Oswaldo Cruz

(Com 20 figuras, 6 mapas, 12 gráficos, 18 quadros e 3 estampas)

O presente trabalho apresenta uma face do problema "bromélia-malária" no estado de Santa Catarina, associada aos três vetores, *Anopheles* (*Kerteszia*) *cruzii* Dyar & Knab, *A.* (*K.*) *homunculus* Komp e *A.* (*K.*) *bellator* Dyar & Knab, todos proliferando na água armazenada no imbricamento das fôlhas das espécies de bromeliáceas.

A situação de malária desenvolve-se na costa marítima de Santa Catarina, a começar na Formação de Restinga, composta de uma flora de algumas centenas de espécies que, na maioria arbustos e epífitas, se limita a estreita faixa do litoral atlântico. Ao lado da mesma, desenvolve-se vegetação mais exuberante e de menor uniformidade, a qual vem desde a serra do Cubatão (estado de São Paulo) até as estepes do Rio Grande do Sul, internando-se para Oeste através da serra do Mar até uma altura de mais ou menos 600 metros ao nível do mar, confinando-se com o pinheiral do planalto. A região das dobras tetônicas, onde se desenvolve êste tipo de vegetação, é caracterizada por vales bastante dessecados, recobertos por árvores que oferecem condições ótimas ao desenvolvimento e propagação das bromliáceas epífitas.

---

[*] Trabalho de campo realizado sob os auspícios do Serviço Nacional de Malária, no período compreendido entre os anos de 1949 a 1953. Dedicamo-lo ao mestre Dr. Henrique Aragão, que muito nos estimulou no decorrer dos estudos. Recebido para publicação a 15 de outubro de 1955.

Esta composição florística, que denominamos de "Formação pluvial do sul do Brasil", está localizada num clima com temperaturas elevadas no verão, relativamente baixas no inverno, altas precipitações anuais (atingindo até 2 000 mm.) e umidade relativa, igualmente elevada. Os microclimas formados pelas matas não só favorecem as bromeliáceas aí instaladas como também aos anofelinos do subgênero *Kerteszia*.

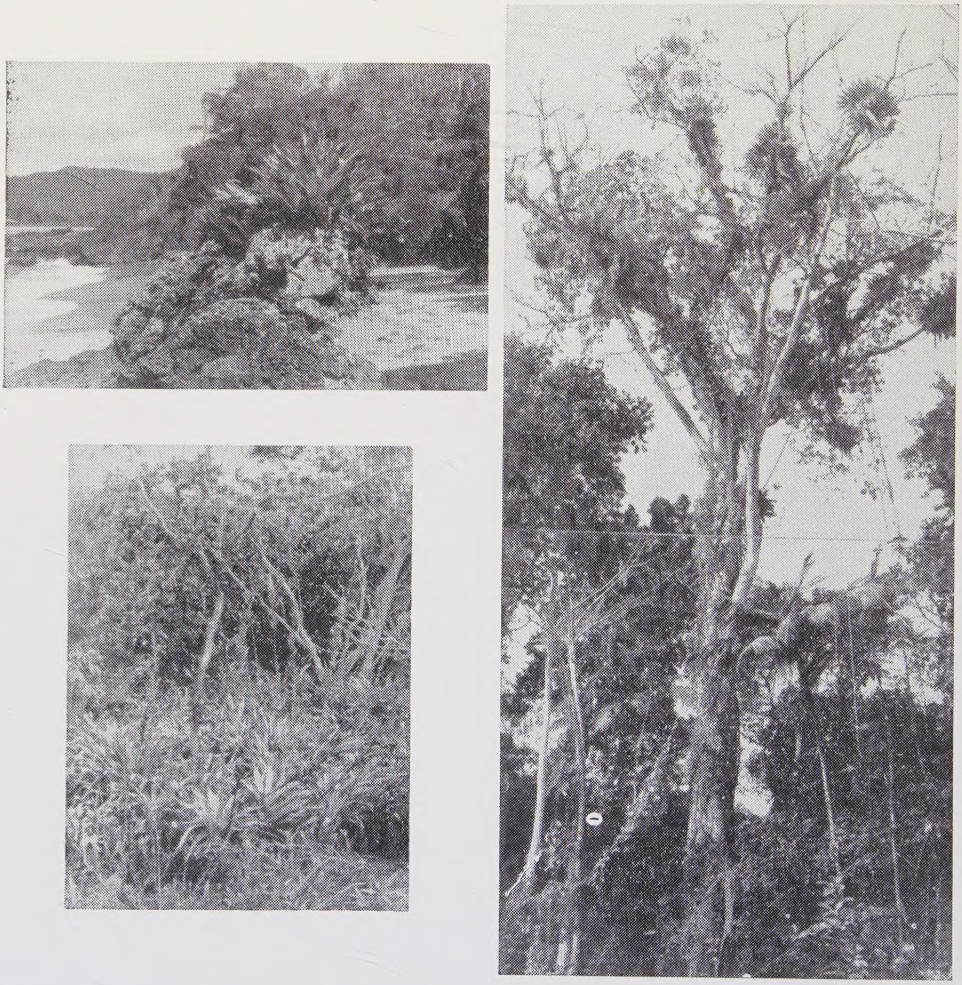


Fig. 1 — Vistas com Bromeliáceas rupestres, terrestres e epífitas.

Na região de colonização germânica, onde as cidades e vilas crescem ao longo dos vales, permaneceram intactos grande núcleos de matas situadas nas zonas úmidas, encostas e alto das grandes colinas; desenvolveu-se grave situação de malária. Nestas comunidades, foram intaladas nossas Estações de estudo, em virtude de aí se encontrarem como epífitas, rupestres e terrestres, milhões de bromeliáceas (média de quatro indivíduos por metro quadrado sendo que, em espécies arbóreas, como por exemplo em *Ficus subtriplinervia* Mart., observam-se mais de mil epífitas).

O único meio permanente de combate à malária, que pode ser realizado, quando as espécies vectoras são as *Kerteszia*, consiste na destruição dos seus criadouros ou da vegetação que as abriga (o insigne sábio brasileiro, Prof. Dr. Adolfo Lutz, já em 1892 aconselhava o desmatamento como medida capaz de solucionar o referido problema, então existente na serra do Cubatão, em São Paulo). Após os estudos preliminares dos técnicos do Serviço Nacional de Malária — Drs. Juarez Amaral, J. O. Coutinho, Mário de Oliveira Ferreira, Renê Guimarães Rachou, Ivan Ricciardi e do sanitarista Mário Pinotti, então diretor do S.N.M. —, a primeira medida posta em prática foi a da retirada manual de tôdas as bromeliáceas existentes nas cercanias das cidades, vilas ou povoações habitadas por milhares de operários e agricultores; método executado anteriormente nas Índias Ocidentais Inglêsas (Trinidad e Tobago). A segunda medida, por ser a destruição total da flora "bromelícola" um vasto e dispendioso empreendimento, foi o desmatamento das áreas circunvizinhas às cidades de Brusque, Blumenau, Joinvile e outras. Processo eficiente de combate à malária, porém por demais drástico numa região geomorfológica onde o reflorestamento deve ser aconselhado pelos poderes públicos a fim de

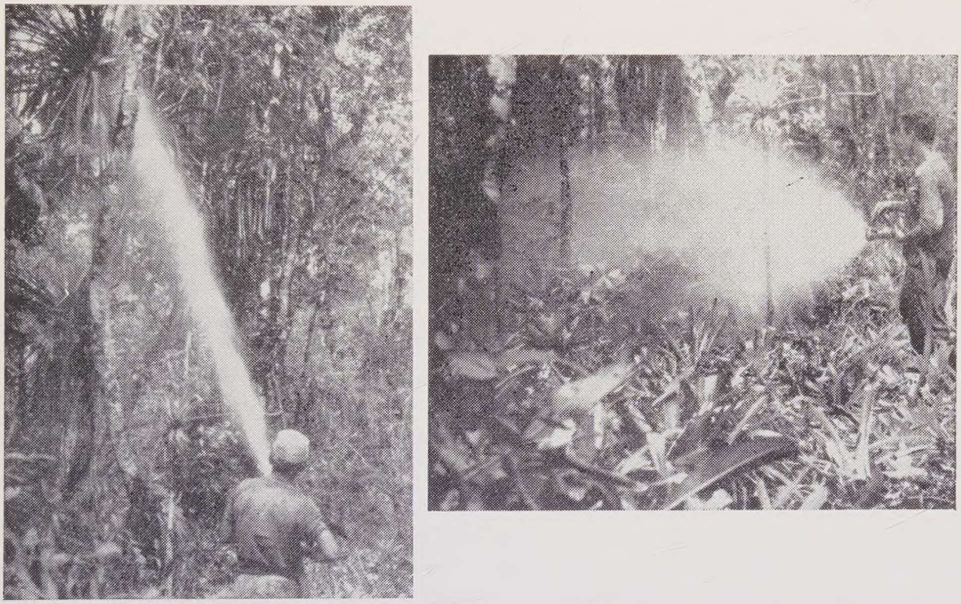
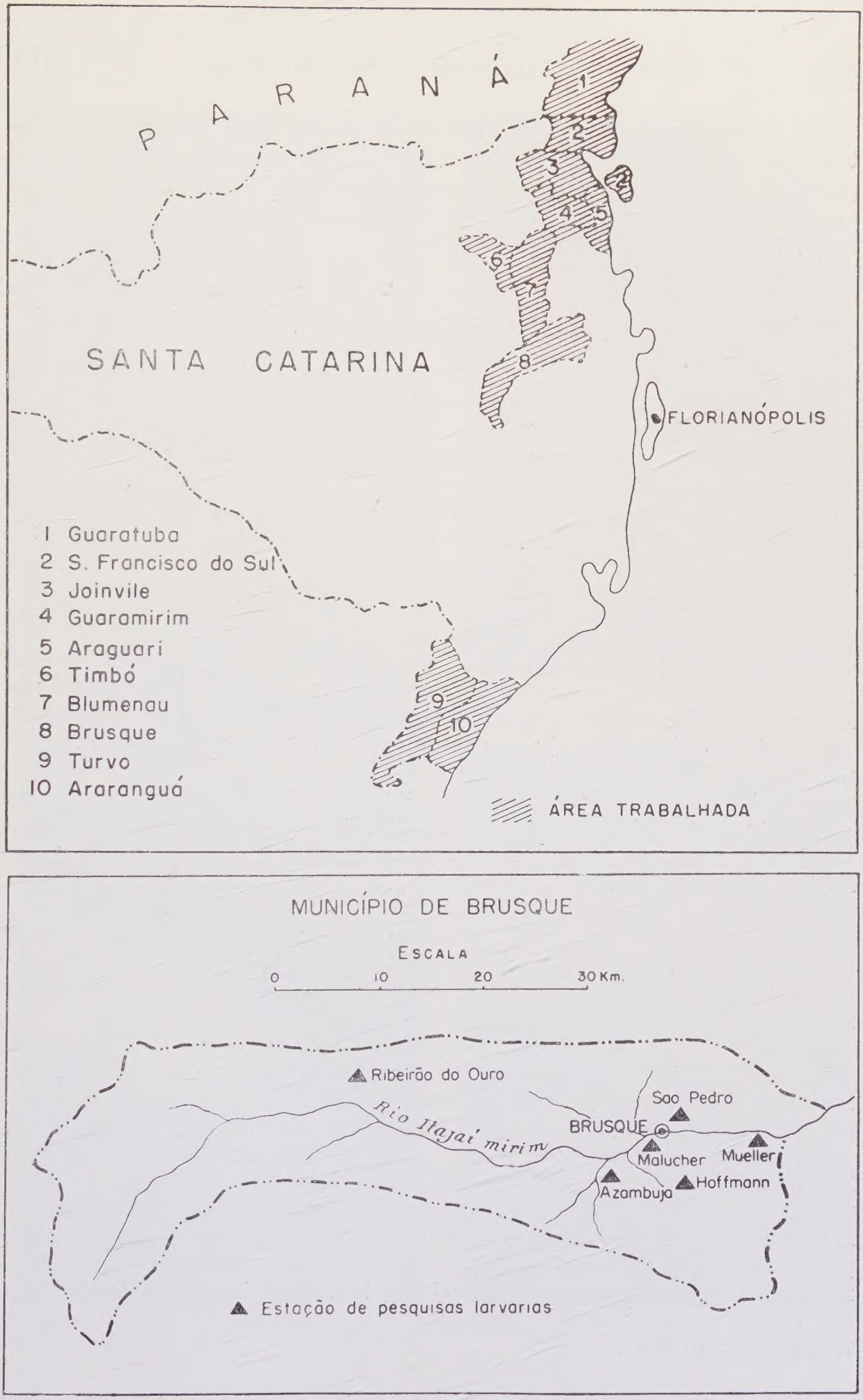


Fig. 2 — Processo de aplicação do sulfato de cobre em Bromeliáceas terrícolas e epífitas em Guaratuba, Estado do Paraná.

controlar as grandes enxurradas e defender o solo contra a erosão, não podia continuar indefinidamente; razão pela qual, em dezembro de 1948, a Diretoria do Serviço Nacional de Malária entrava em entendimentos com o Diretor do Instituto Oswaldo Cruz, Prof. Dr. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, para indicar técnicos que, em colaboração com o S.N.M., estudassem processos menos drásticos na solução de combate aos criadouros das *Kerteszia* no sul do Brasil. Assim é que, enquanto realizávamos os estudos, de acôrdo com a orientação do Dr. MÁRIO PINOTTI, empregávamos uma solução de sulfato de cobre como herbicida, em razão de ter sido a mesma aplicada com grande sucesso por PITTENDRIGH, em Trinidad. A referida experimentação foi abandonada em virtude de ser lenta e onerosa, sendo substituída, com grandes vantagens, pelo verde-paris polvilhado por avião, método estudado pelo Dr. MÁRIO B. ARAGÃO.

A imensa densidade de bromeliáceas existentes nas matas dêste tipo de Formação com a conseqüente densidade elevada de anofelinos, não é uniforme, o que veio agravar o problema, pois os métodos de combate postos em prática — retirada manual, desmatamento e aplicação de herbicidas — obedeciam sempre ao critério de destruição total da flora "bromelícola", onerando e dificultando imensamente sua permanente solução. Visando esta é que procuramos determinar, com a maior exatidão possível, a distribuição dos criadouros num ponto de referência, situado mais ou menos no centro da região de "bromélia-malária" — BRUSQUE, para em seguida totalizarmos a maioria da área infestada. Sabedores, no entanto, que a separação dos criadouros por espécie é o método mais seguro de determinação dos habitats das *Kerteszia* pois, além de que poderiam existir fatôres intrínsecos diferentes, ocasionando uma especificação na ovoposição das *Kerteszia*, poderiam também existir fatores gerais sem nenhuma especificação. Daí havermos realizado análise química sumária e estudo do plancton das águas (estudo êste executado pelo Dr. FIRMINO TORRES DE CASTRO, técnico do Instituto Oswaldo Cruz. Igualmente importante é a verificação do número relativo de larvas que cada criadouro pode conter em si e por área. Sabedores, ainda, que as espécies de bromeliáceas e de *Kerteszia* têm uma distribuição bastante irregular, obedecendo sempre às condições climáticas do interior das matas que, conforme as exigências específicas, possuem os ótimos de vida, ora no microclima existente ao nível do solo (sinusia arbustiva), ora a alguns metros dêste (sinusia das arvoretas) e ora no alto das árvores (sinusia arbórea). Ver-se-á, porém, que só êsses fatôres não formam um quadro completo do problema bioecológico, uma vez que as comunidades estabelecidas nesta região, bastante dessecada, ocupam situações topográficas diferentes, ocasionando grandes modificações na densidade "bromelícola e anofelínica", de acôrdo com as condições microclimáticas mais propícias a cada espécie, seja de *Kerteszia* seja de bromeliáceas.



Mapa 1 — Municípios trabalhados, ressaltando Brusque, com indicação das comunidades estudadas.

A Ecologia geral das bromeliáceas foi discutida em trabalho anterior, onde vimos que o fator tolerância (intensidade luminosa, situação dos indivíduos e umidade relativa) era o de maior importância em sua abundância. Vimos, também, que a percentagem de positividade, presença das formas aquáticas de *Kerteszia,* está mais relacionada à condição de volume de água do criadouro do que à umidade atmosférica e intensidade luminosa que são fatôres de distribuição das espécies de bromeliáceas e dos alados em questão. Assim é que, conquanto a densidade das bromeliáceas e formas aquática das três espécies de *Kerteszia* podem variar muito nas comunidades semelhantes, a distribuição por espécie, tanto de bromeliácea como de *Kerteszia,* é sempre bastante uniforme nas zonações idênticas. No presente trabalho, iremos ver a distribuição vertical das espécies de bromeliáceas e de *Kerteszia* em três comunidades, assim como a altura de vôo dos alados na mata da Azambuja. As comunidades aqui apresentadas são amostras representativas das principais zonações topográficas existentes no município de Brusque. Mais comunidades foram estudadas e trabalhadas em outros municípios, que serão objeto de posteriores análises.

Resolvemos, com a finalidade de obter identificações seguras, enviar o material herborizado aos especialistas que aceitassem a incumbência de os estudar; assim sendo, remetemos: as *Myrtaceae* para DIEGO LEGRAND, de Montevideo (Uruguai); as *Leguminosae* para A. BURKART, de San Isidro (Argentina); as *Compositae* e *Thymeliaceae* para MERXMÜLLER, de München (Alemanha); as *Melastomaceae* e *Apocynaceae* para E. YORK (U.S.A.); as *Anonaceae* para R.E. FRIES, de Stockholm (Suécia); as *Combretaceae* para A. W. EXCELL, de Londres (Inglaterra); as *Solanaceae* para R. SCOLNIK (U.S.A.); as *Lauraceae* para A. KOSTERMANS, de Bogor (Indonésia) e ALLEN (U.S.A.); as *Flacourtiaceae* para J. SLEUMER, de Tucuman (Argentina), e as *Myristicaceae* para A. C. SMITH (U.S.A.). O restante do material foi enviado aos botânicos L. B. SMITH, de Washington (U.S.A.), E. ASPLUND, de Stockholm (Suécia) e R. REITZ, de Itajaí (Brasil) que, pela larga experiência que possuem da Flora Tropical Brasileira, se prontificaram a determiná-lo dentro do possível. As Bromeliaceae foram identificadas pelo botânico RAULINO REITZ, do Herbário "Barbosa Rodrigues", em Itajaí (Brasil) e, posteriormente, confirmadas pelo especialista L. B. SMITH, de Washington (U.S.A.), quando de sua viagem ao Brasil em 1952. Os exemplares de *Anopheles* (*Kerteszia*) spp. foram remetidos ao Dr. RENÊ G. RACHOU que, com sua equipe, montou e identificou centenas de indivíduos das três espécies existentes em Santa Catarina. A todos registramos a nossa gratidão pela valiosíssima colaboração que prestaram. Aproveitamos o ensejo para agradecer à Seção de Cartografia do I.O.C., na pessoa de seu chefe, Dr. JOSÉ VENÂNCIO DE MOURA que muito nos ajudou na composição e organização dos gráficos e ilustrações do trabalho.

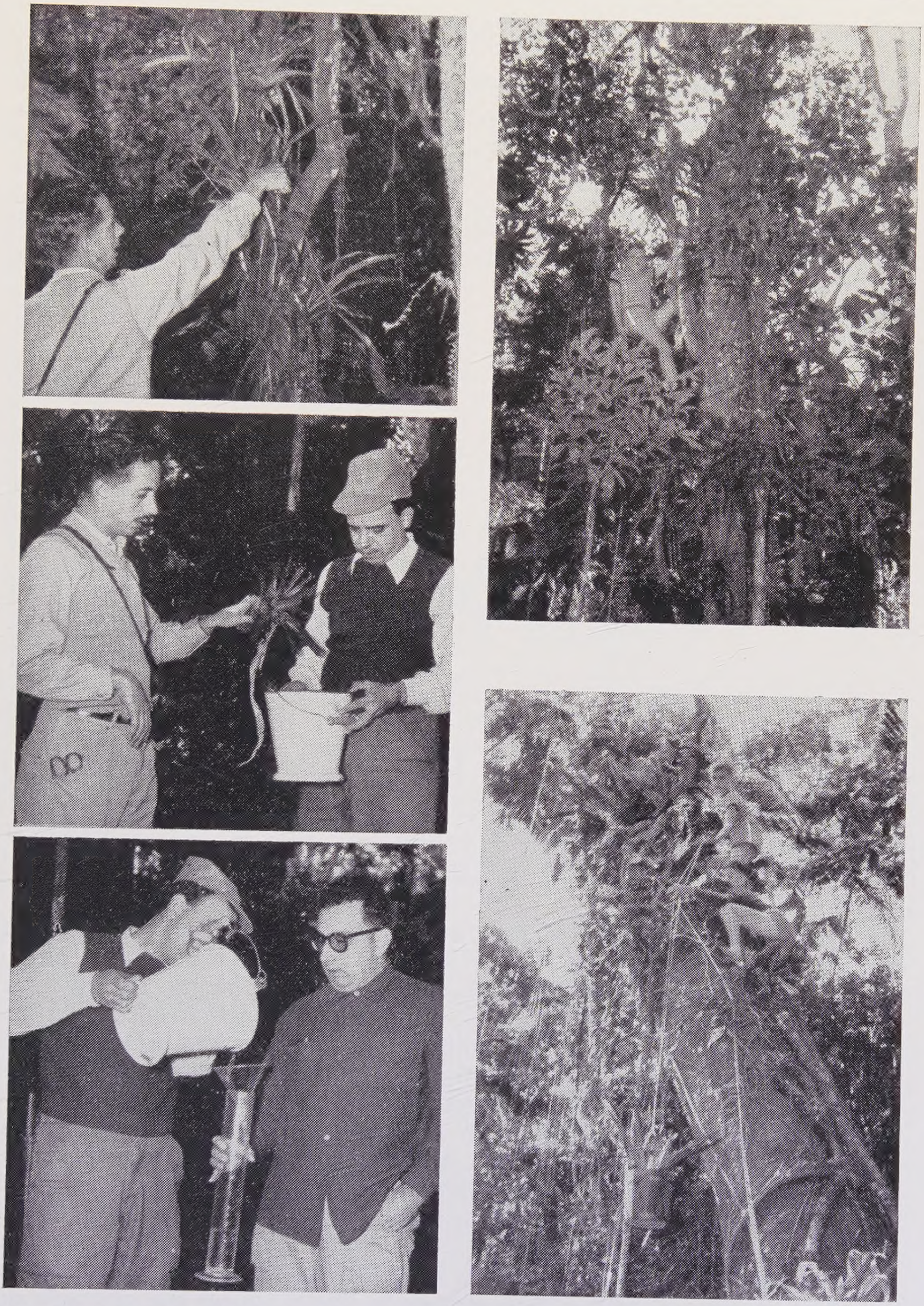
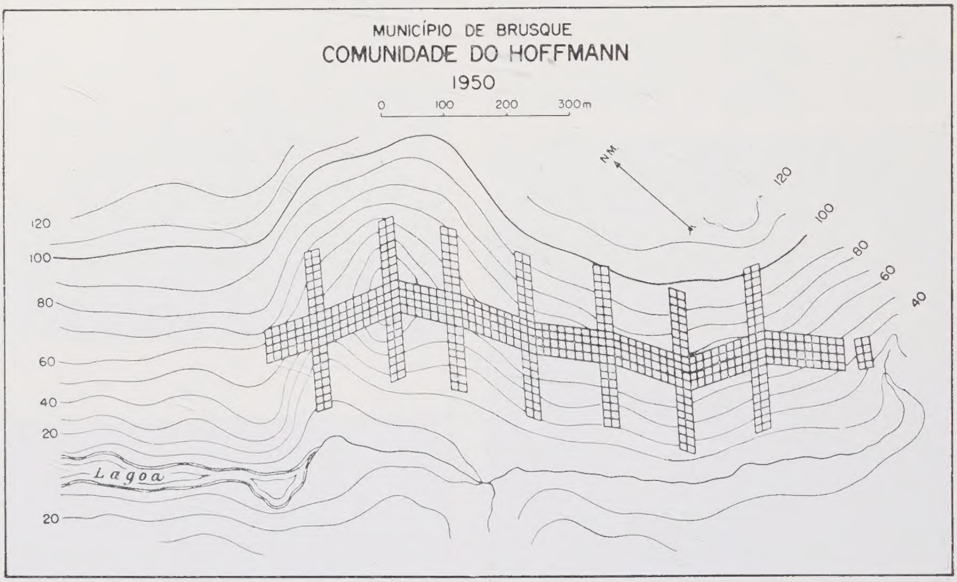


Fig. 3 — Processo de coleta da água contida no embricamento das fôlhas das bromeliáceas.

MÉTODOS

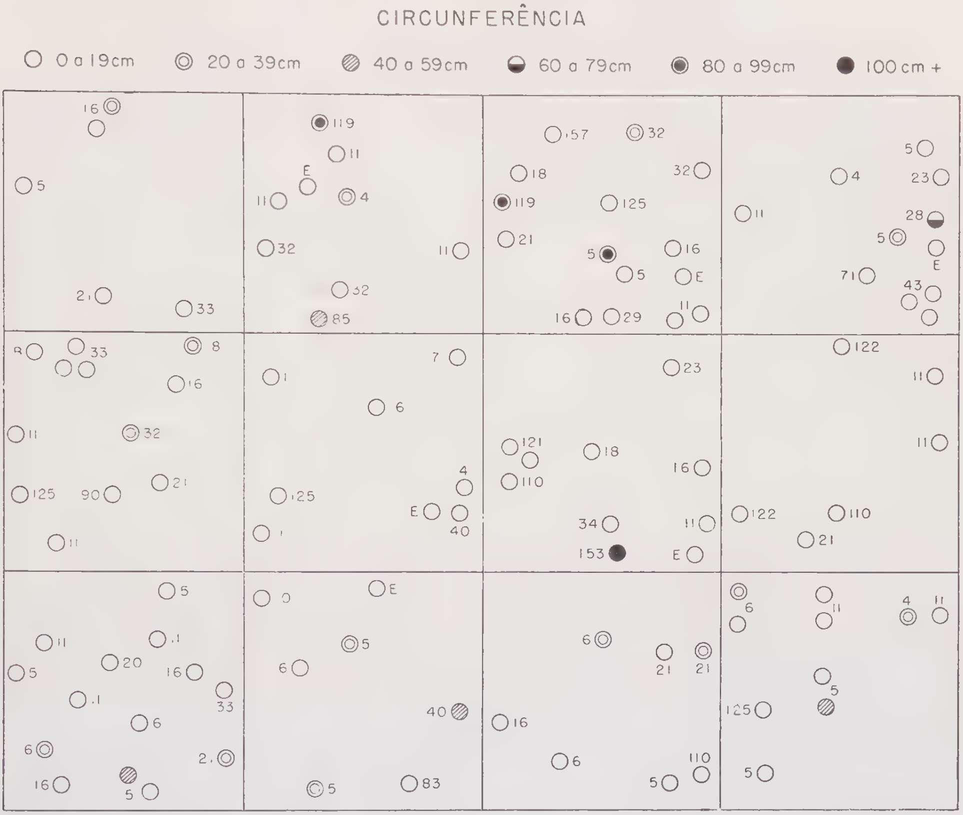
Os estudos tiveram, em cada comunidade, uma duração de 12 meses consecutivos ou seja um ciclo anual.

A equipe encarregada dos trabalhos de campo, quando em serviço de pesquisas larvárias rotineiras, manteve a seguinte organização: um ecologista auxiliar incumbia-se das anotações e primeiras identificações "in loco" das espécies de bromeliáceaes, que iam sendo retiradas para estudo; um auxiliar de campo, também capaz de diferenciar as bromeliáceas, encarregava-se de subir às árvores, medir em metros a situação dos indivíduos em relação ao solo, retirá-las e descê-las; outro ajudante ocupava-se em recebê-las, cortar as fôlhas acima do nível da água, derramando-a de uma só vez num balde esmaltado para, em seguida, ser recolhida em vidros com rôlhas de borracha. O resto da planta, contendo os detritos, era lavado com água destilada e esta também recolhida. Os vidros, devidamente rotulados, eram enviados ao laboratório para pesquisas larvárias e, posteriormente, remetidos para exames químicos e de plancton. Além disso, as larvas de *Kerteszia* eram separadas para posteriores identificações pelos especialistas, — o material criado foi remetido para classificação ao Instituto de Malariologia, no Rio de Janeiro.



Mapa 2 — Levantamento topográfico e demarcação das áreas onde foram realizados os estudos de saturação.

Fizemos, após o ciclo anual das pesquisas larvárias, o levantamento quantitativo dos indivíduos das espécies de bromeliáceas por unidade de área. Êsse levantamento visou, sobretudo, a obtermos elementos para



Mapa 3 — Exemplo de 12 quadrados de 4 por 4 metros, mostrando um trecho do levantamento da comunidade do Mueller. Método realizado no mapeamento de tôdas as comunidades da região.

E = *Euterpe edulis* Mart.
B = *Bactris Lindmaniana* Dr.
4 = *Calyptranthes obscura* DC.
5 = *Sloanea guianensis* (Aubl.) Benth.
6 = *Gomdesia spectabilis* (DC.) Berg.
10 = *Talauma ovata* St. Hil.
11 = *Mollinedia Uleana* Perk.
16 = *Marlierea racemosa* (Vell.) Kiaeer.
13 = *Endlicheria hirsuta* Nees
20 = *Marlierea silvatica* (Gardn.) Kiaer.
21 = *Sorocea ilicifolia* Miq.
23 = *Psychotria suterella* Muell. Arg.
29 = *Licania* sp.
32 = *Torrubia olfersiana* (Lk., Kl. et Otto) Standl. var. *nitida* (Heimerl) Reitz.
33 = *Quina Glaziovii* Engler
34 = *Cabralea glaberrima* A. Juss.
40 = *Marlierea parviflora* Berg.
43 = *Marlierea tomentosa* Camb.
83 = *Cariniana estrelensis* (Raddi) O. Ktze.
85 = *Dalbergia brasiliensis* Vog.
90 = *Psychotria alba* R. & P.
110 = *Rudgea jasminoides* Muell. Arg.
119 = *Nectandra oppositifolia* Nees
121 = *Piper Gaudichaudianum* Kunth.
122 = *Pouteria venosa* (Mart.) Baehni
125 = *Trichilia Casaretti* C. DC.
153 = *Ficus anthelminthica* Mart.
157 = *Chrysophyllum inornatum* Mart.

calcular a densidade dos exemplares positivos e, lògicamente, a densidade larvária por superfície conhecida e uniforme para todos os locais estudados.

Precedeu aos estudos em questão o nosso trabalho de saturação e experimentação de métodos, realizado na comunidade do Hoffmann com o fim de conhecermos a densidade e sistemática das espécies características da região de "bromélia-malária".

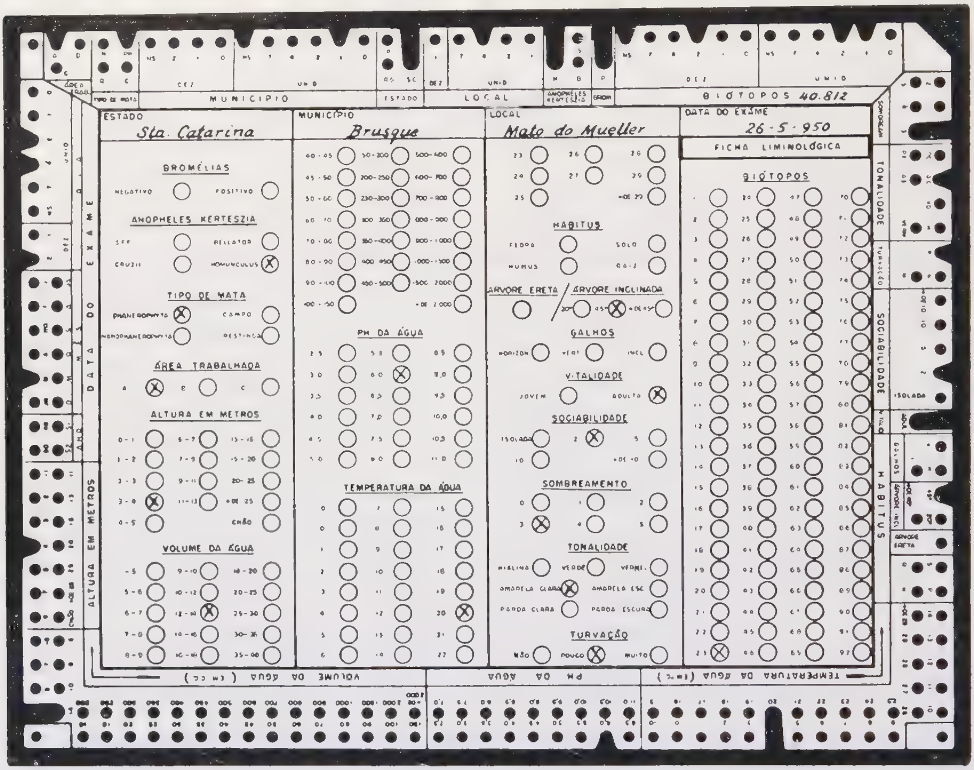

MUNICIPIO
ESTADO
LOCAL
ANOPHELES KERTESZIA
BROM
BIÓTOPOS 40.812
ESTADO
Sta. Catarina
MUNICÍPIO
Brusque
LOCAL
Mato do Mueller
DATA DO EXAME
26-5-950
FICHA LIMINOLÓGICA
BROMÉLIAS
NEGATIVO
POSITIVO
ANOPHELES KERTESZIA
CRUZII
BELLATOR
HOMUNCULUS
TIPO DE MATA
PHANEROPHYTA
CAMPO
RESTINGA
ÁREA TRABALHADA
A
B
C
ALTURA EM METROS
CHÃO
VOLUME DA ÁGUA
PH DA ÁGUA
TEMPERATURA DA ÁGUA
HABITUS
SOLO
HUMUS
ÁRVORE ERETA / ÁRVORE INCLINADA
GALHOS
HORIZON
VERT
INCL
VITALIDADE
JOVEM
ADULTA
SOCIABILIDADE
ISOLADA
SOMBREAMENTO
TONALIDADE
VERDE
AMARELA CLARA
AMARELA ESC
PARDA CLARA
PARDA ESCURA
TURVAÇÃO
NÃO
POUCO
MUITO
BIÓTOPOS
DATA DO EXAME
ALTURA EM METROS
TONALIDADE
TURVAÇÃO
SOCIABILIDADE
HABITUS
VOLUME DA ÁGUA (EM CC)
PH DA ÁGUA
TEMPERATURA DA ÁGUA

Fig. 4 — Ficha MacBEE-Keysort — Mod. 49 usada em nosso trabalho.

O levantamento fitossociológico foi realizado pelo ecologista Roberto Klein que se fêz acompanhar de um lenhador prático no conhecimento dos nomes vulgares das espécies (25 anos como empregado de serraria), e de dois rapazes, um para marcar as árvores, arvoretas e arbustos com seus respectivos números em placas metálicas e outro, provido de fita métrica, para medir as circunferências exatas e alturas aproximadas dos indivíduos fanerófitos. Além dêstes dados, ainda era anotado o número relativo de bromeliáceas epífitas existentes nos quadrados.

De posse dos dados que nos forneceu a comunidade do Hoffmann, pudemos lançar-nos à grande tarefa sôbre o estudo de área mínima, freqüência, abundância, densidade e dinâmica da vegetação nas outras matas em zonações semelhantes ou não às de Brusque, como também das dos outros municípios localizados dentro da região da "Formação pluvial do sul do Brasil".

As observações sôbre o problema "bromélia-kerteszia" foram anotadas em ficha de campo e, posteriormente, registradas em ficha do tipo McBEE-Keysort-Mod. 49, com a finalidade de possibilitar rápida análise dos dados obtidos em nosso trabalho de pesquisas ecológicas.

Para melhor analisarmos o número de dados obtidos no campo, os quais se consubstanciaram finalmente em milhares de fichas, procuramos utilizar uma técnica simples que não nos levasse à execução de cálculos exaustivos. Depois de algumas análises preliminares em que fizemos amostragem de dados e calculamos numerosas médias e desvios-padrões, aplicamos o teste de "*t*" para verificação da homogeneidade de certos itens considerados, resolvemos analisar tôda a massa de dados através de quatro valores principais calculados que são:

1.°) *Índice de positividade* — Freqüência relativa de bromeliáceas com formas larvárias ou pupas, em relação ao número de criadouros examinados.

2.°) *Índice larvário* — Número médio de larvas e pupas nas bromeliáceas positivas consideradas em cada caso.

3.°) *Índice de ovoposição* — Obtido pelo produto: índice de positividade × índice larvário.

4.°) *Índice MK*[1] — Demonstrativo do valor epidemiológico dos criadouros sob vários pontos de vista, é o produto do índice de ovoposição pelo número total de bromeliáceas, por unidade de área, positivas ou não, consideradas em cada caso.

Além disso, em certos casos, procuramos ver a significação que poderia ter o produto dos índices de ovoposição e do *MK* pelas estimativas percentuais das três espécies de anofelinos do subgênero *Kerteszia* nas diferentes condições consideradas.

Desejando conhecer a provável preferência de vôo dos *Kerteszia,* no interior da mata e, por conseguinte, quais as alturas preferenciais para as posturas e, ainda, a influência sôbre os mesmos da umidade atmosférica, planejou-se, com o auxílio do entomologista JOAQUIM ALVES FERREIRA NETO, o seguinte método de pesquisa: Levando em consideração a necessidade de escolha da "mata-amostra" que, topogràficamente, nos desse uma idéia mais ou menos real do problema "bromélia-malária", existente em grande parte do sul do Brasil, optou-se pela mata do Azambuja que, como vimos, tem três zonações por nós denominadas de "*A, B, C*" e onde foram medidos os quadrados a que já nos referimos.

Foram instaladas duas "árvores-postos" de capturas na zona "*A*", levando em consideração aí termos dois tipos de terreno: um muito úmido, por onde passa o córrego, e outro mais sêco, afastado alguns metros do primeiro; uma outra na zonação "*B*" e ainda outra na "*C*". As

---

[1] As letras *MK* foram retiradas das iniciais — Malária e *Kerteszia*.

"árvores-postos" em si, no que diz suas localizações em cada uma das zonações, foram escolhidas ao acaso, contanto que, nos troncos das mesmas, se pudessem instalar duas plataformas, construídas de madeira e que, além de proporcionarem relativo confôrto ao capturador, ficassem situadas a primeira entre 7 e 9 metros e a segunda entre 12 e 17 metros de altura, além da escada de acesso.

Para se determinar o tempo de duração das capturas, prèviamente foram realizadas experimentações de onde se pudessem observar até de que distância o capturador atraía hematófagos. O interêsse estava em sòmente aprisionarem os alados que se encontrassem nas alturas de seus habitats e, evitando conseqüentemente que, por intermédio de "iscas-humanas", os resultados sofressem por demais suas influências. Observou-se, após várias experiências que o primeiro mosquito aparecia entre 7 e 12 minutos e que, com uma ou mais horas de capturas, já se percebia o aparecimento de centenas de alados que subiam e desciam conforme o deslocamento do capturador. Constatamos, assim, que o homem não exercia uma total influência para atração dos hematófagos, de maiores distâncias e alturas, acaso se expusessem sòmente por 30 minutos.

Uma vez de posse do tempo ideal de captura, formou-se uma equipe de seis capturadores, dos quais dois eram reservas; cada um dêstes elementos era munido de tubos de captura, contendo clorofórmio, pequenas caixas de papelão para depositar os mosquitos, psicômetro não ventilado, lanterna elétrica portátil e cronômetro.

Fixaram-se, por sorteio, as têrças-feiras de cada semana até perfazer o ciclo anual completo e as capturas, sem exceção, iniciar-se-iam às 12 horas e terminariam às mesmas horas das quartas-feiras seguintes. Tôdas as segundas-feiras sorteava-se por qual "pôsto" se iniciaria a operação do dia seguinte, como também em qual altura se faria a primeira captura; em seguida, eram também sorteadas as outras "árvores-postos" e respectivas alturas. Por exclusão, nunca se permitiu o sorteio do mesmo pôsto ou altura duas vêzes consecutivas.

Tendo a relação das "árvores-postos", os capturadores (calças arregaçadas até os joelhos, sem proteção de luvas ou rosto coberto) iniciavam seu trabalho no solo, caso fôsse esta altura sorteada, e de imediato na primeira e, posteriormente, na segunda plataforma; sempre eram colhidos os mosquitos que, nas partes nuas do capturador, vinha sugar. Antes e após a meia hora de captura era lido o psicômetro e, no fim de 30 minutos, recolhidos à caixa de papelão os alados apanhados; daí o capturador deslocava-se para outro ponto, e assim sucessivamente.

Tomou-se especial cuidado de prèviamente constatar-se que os homens encarregados do trabalho não fôssem fumantes e não soubessem distinguir um *Kerteszia* de outros *Culicidae*. A última medida tornou-se indispensável a fim de que não sofressem os dados influências preferenciais, ficando o capturador com maior interêsse em colher êste ou aquêle hematófago. Após os trinta minutos da última "árvore-pôsto" prevista, era então substituído por outro capturador. Cada homem

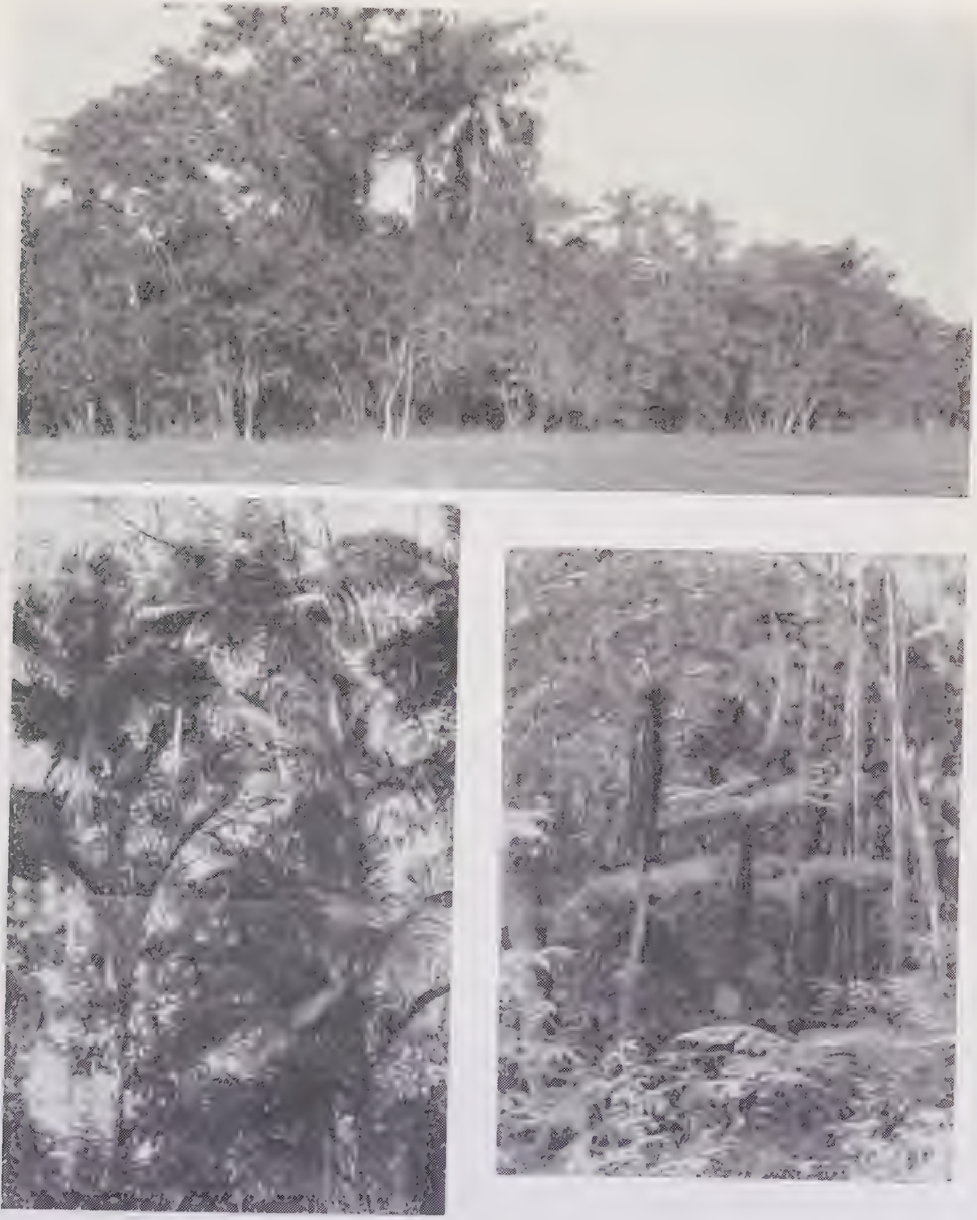


Fig. 5 — A *Euterpe edulis* e a *Cyathea schanschin*.

trabalhava em tôdas as capturas de todos os postos e completava o ciclo em seis horas.

Resolvemos adotar os têrmos "palma-fanerófita" e "ciatea-pteridófita" para indicarem as subformas biológicas de *Palmaceae* e *Ciathaceae* que ocorrem nas comunidades do sul do Brasil. As razões aqui registradas, cremos, serão plenamente justificadas, porque as Palmáceas com seus estipes delgados, copas ralas e raízes fasciculadas, não podem ser niveladas à outras fanerófitas Dicotiledoneas e as Ciateáceaes arborescentes, com seu caule grosso, frondes enormes e pequeno porte, fazem com que êste grupo exerça papel bem diferente do preenchido pelos outros elementos que compõem a sinusia. Nas "palma-fanerófita" citaremos como exemplo, para o extrato arbóreo, a *Euterpe edulis* que, ultrapassando, não raras vêzes, a maioria das macrofanerófitas, não exerce papel idêntico ao desempenhado pelas árvores Dicotiledôneas que, verdadeiramente, imprimem o microclima dos estratos inferiores das matas. Nas "ciatea-pteridófita", citaremos a *Cyathea schanschin* (feto arborescente) que, preenchendo um espaço superior ao normal ocupado pelos elementos do estrato arbustivo, é própria dos vales úmidos e encostas sombrias, raramente abrigando plântulas de outras espécies a não ser epífitas.

No fim dos estudos, obtivemos dados que, além de nos possibilitarem averiguar fatos fitossociológicos, facultou-nos constatar o seguinte:

1.º) A distribuição das bromeliáceas,
   a) sua distribuição vertical e
   b) sua distribuição por volume de água.

2.º) A ovoposição das três espécies de *Kerteszia* (produto da positividade pelo número de indivíduos de bromeliáceas positivas),
   a) sua distribuição vertical e
   b) sua distribuição por espécie de bromeliácea.

3.º) Distribuição do valor epidemiológico em diferentes pontos de vista.

4.º) A altura de vôo dos *Kerteszia* dentro da comunidade da Azambuja.

AS COMUNIDADES

Comunidade do São Pedro — A Estação de estudos de São Pedro, localizada ao lado da rua do mesmo nome, no quadrante nordeste da cidade, é uma comunidade isolada com cêrca de 55 000 metros quadrados. Ocupa o talvegue de um pequeno vale aberto e úmido, que em épocas de chuva é inundado, formando um charco de drenagem difícil. Constatamos, de acôrdo com os dados fitossociológicos, que esta mata não sofreu, em épocas passadas, devastações, porém verificamos a existência de grandes diferenças estruturais e fisionômicas com características bem diferentes das assinaladas em outras zonações. Daí concluímos que a comunidade do São Pedro faz parte da *sera* regional, onde a água em excesso, encharcando o solo, constitui um fator inibidor ao clímax da Formação. Nesta área, demarcamos um quadrado com 4 096 m^2, onde foram mensurados cêrca de 4 000 indivíduos distribuídos dentre 61 espécies de árvores, arvoretas e arbustos. Durante o ciclo anual de pesquisas larvárias, compreendido entre os meses de novembro de 1949 a outubro de 1950, estudamos 7 096 criadouros dentre 14 espécies de bromeliáceas.

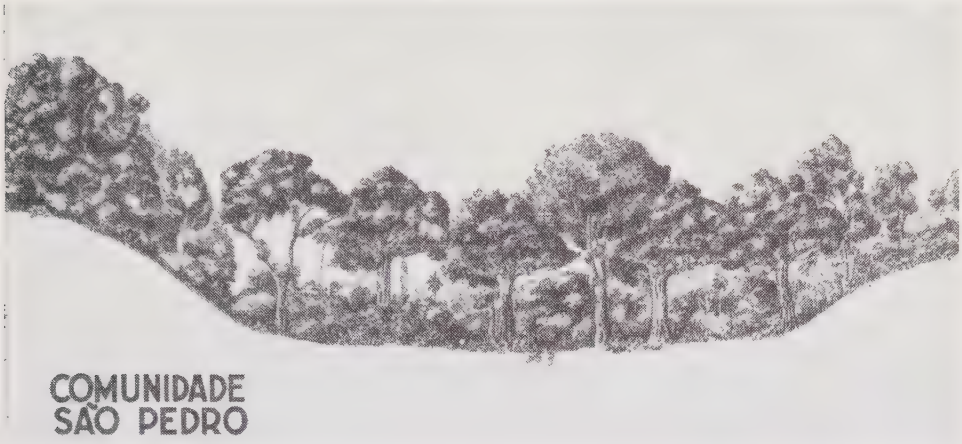


Fig. 6 — Perfil da Comunidade de São Pedro.

Apresentamos, da área estudada, o levantamento completo de um quadrado que media 32 metros de lado (1 024 m^2) e subdividido em 64 outros com 4 por 4 metros (16 m^2).

Em nosso levantamento, sòmente constatamos a presença de 40 fanerófitas das 61 espécies componentes da comunidade, sendo 16 macrofanerófitas (M.), 4 palma-fanerófitas (sendo 1 Pm., 1 Pmn. e 2 Pn.), 13 mesofanerófitas (MN.), 1 ciátea-pteridófita (Cn.) e 6 nanofanerófitas (N.). Considerando, ainda, o grande número de espécies raras à comunidade (menos de 1% de abundância e de 10% de freqüência), e as estranhas à mesma, temos, na realidade, apenas 13 elementos que imprimem à mata, com suas centenas de exemplares, um característico sociológico bastante uniforme.

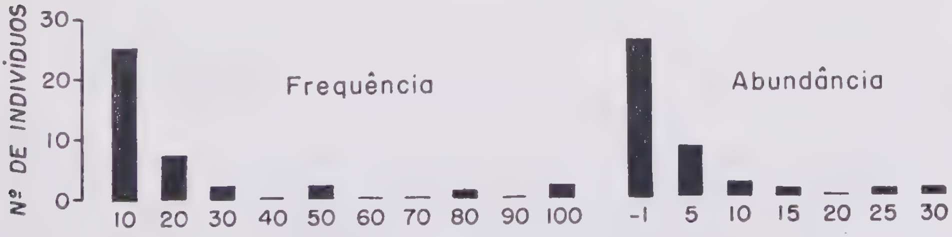
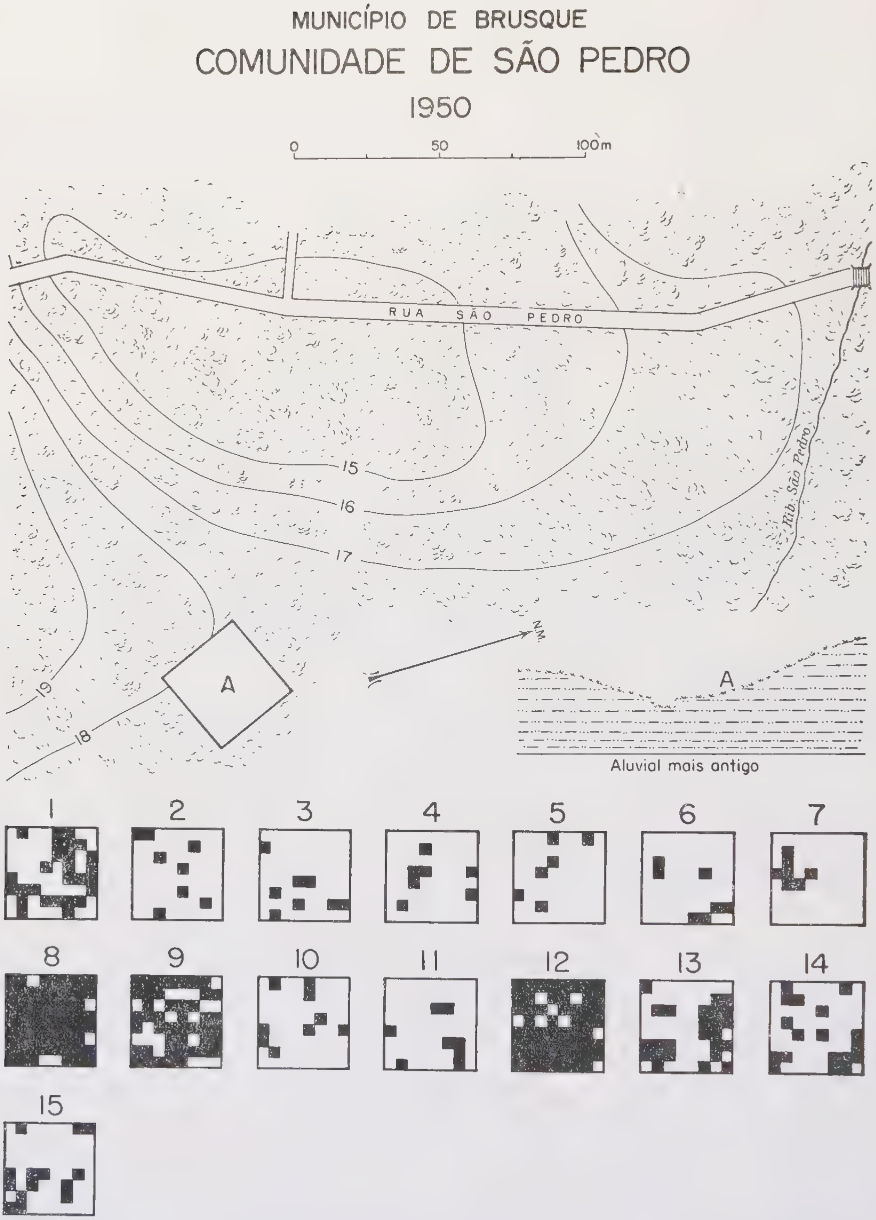


Gráfico 1 — Freqüência e abundância na comunidade do São Pedro.

Como dominantes do estrato arbóreo, surgem a *Tabebuia umbellata* e *Euterpe edulis*; a primeira dá à mata, em agôsto e setembro, quando seus indivíduos perdem as fôlhas para florescerem em outubro, um "facies semi-decidual"; a



Mapa 4 — Levantamento topográfico, mostrando a localização da área de estudo e, na parte inferior, a distribuição (freqüência) das espécies dominantes pelos quadrados.

Nomenclatura:

1 = *Tabebuia umbellata* Schum. *M.* (139)
2 = *Nectandra rigida* Nees *M.* (74)
3 = *Inga uruguensis* Hook et Arn. *M.* (99)
4 = *Coussapoa Schotti* Miq. *M.* (97)
5 = *Arecastrum Romanzoffianum* (Cham.) Becc. *Pm.* (A.)
6 = *Rapanea umbellata* (Mart.) Mez *M.* (120)
7 = *Alchornea triplinervia* (Spreng.) Muell. Arg. *M.* (17)
8 = *Marlierea tomentosa* Camb. *MN.* (43)
9 = *Marlierea racemosa* (Vell.) Kiaer. *MN.* (16)
10 = *Funifera fasciculata* Meissn. *MN.* (142)
11 = *Guarea verrunculosa* C. DC. *MN.* (87)
12 = *Euterpe edulis* Mart. *Pmn.* (E.)
13 = *Mollinedia Uleana* Perk. e *M. Triflora* Tul. *N.* (11)
14 = *Bactris Lindmaniana* Dr. *Pn.* (T.)
15 = *Geonoma Schottiana* Mart. var. *palustris* (Warm.) Dr. *Pn.* (G.)

segunda, com seu estipe delgado e copa rala sempre verde, imprime, nos meses de estio, um "facies de mata de palmeiras" a êste tipo de associação. Além dessas espécies dominantes, temos, ultrapassando a todos elementos da comunidade, o *Ficus subtriplinervia,* crescendo espaçadamente com copa bem larga, sempre verde, com centenas de bromeliáceas, estampando um "facies de mata baixa e bastante rala"; embora não seja dominante, sob o ponto de vista da abundância, é estranha a atual comunidade que se vem instalando nesta zonação por motivo de modificações pedológicas. Como subdominantes dêste estrato, encontramos as espécies *Inga affinis, Alchornea triplinervia* e *Arecastrum Romansoffianum,* que, com troncos mais grossos e copas mais largas, também caracterizam bastante a associação, embora seus indivíduos adultos e velhos demonstrem sensível mudança microclimática na comunidade, isto é, estas espécies e mais o *Ficus subtriplinervia,* pertencente à vegetação de um tipo mais úmido, estão cedendo lugar — por não encontrarem o ótimo para a germinação de suas sementes e posterior crescimento das plântulas — aos indivíduos de exigências mais mesófilas, como por exemplo: *Buchenavia Kleinii, Endlicheria paniculata, Eugenia leptoclada, Calytranthes obscura* e algumas espécies da família *Lauraceae* dos gêneros *Ocotea* e *Nectandra.*

No estrato médio (arvoretas), encontramos dominando, além da *Euterpe edulis* e *Tabebuia umbellata,* a *Marlierea tormentosa* que, com o subdominante *Marlierea racemosa,* dão ao estrato um aspecto bastante ralo, onde quase não existem bromeliáceas. Os indivíduos das outras espécies que compõem o estrato são exemplares raros ou jovens, mas de copa ainda bastante rala, das macrofanerófitas recém- instaladas na comunidade.

No estrato arbustivo. os dominantes são, de acôrdo com a densidade e abundância, *Marlierea tomentosa, M. racemosa* e *Euterpe edulis* e, como subdominantes, aparecem as nanofanerófitas *Mollinedia uleana* e *M. triflora,* e a palmafanerófita *Bactris Lindmaniana* que, com suas touceiras formadas por dezenas de estipes cheios de espinho, ocupam situações onde a água permanece mais tempo encharcando o solo. Tal estrato é o mais denso, não só desta mata como também de tôdas as comunidades estudadas no município de Brusque. Os indivíduos das duas espécies de *Marlierea,* vivendo juntos, intrelaçam-se, formando um emaranhado de finos caules, fôlhas enormes e centenas de bromeliáceas das espécies: *Nidularium innocentii* var. *Paxianum, Vriesia incurvata, V. carinata* e, em sua parte mais alta, suportam as grandes touceiras de *Vriesia Phelippocoburgii* var. *Phelippocoburgii, V. Jonghii* e *Canistrum Lindenii,* que se desprendendo dos troncos e galhos dos indivíduos de *Ficus subtriplinervia* aí se instalam e continuam a viver, aparentemente, em equilíbrio com o novo meio. As espécies que se seguem, também bastante numerosas, contribuem, em vista da sua abundância, para a formação do "facies denso do estrato médio desta mata": a nanofanerófita *Faramea montividensis,* as mesofanerófitas *Guarea verrunculosa* e *Casearia silvestris* e, finalmente, *Cousapoa Schottii* que, apoiando-se aos exemplares ainda jovens das espécies arbóreas, crsecem junto às macrofanerófitas.

O estrato herbáceo é composto, quase que exclusivamente, pela bromeliácea *Nidularium innocentii* var. *Paxianum* que, prêsas ao humus, troncos caídos já bastante apodrecidos e, não raramente, às raízes tabulares das figueiras, caules e galhos dos outros fanerófitos mais baixos, formam, com os indivíduos jovens das espécies *Euterpe edulis, Geonoma Schottiana* var. *genuina* e *Posoqueria latifolia,* um estrato bastante pobre, a não ser quando os exemplares gregários de *N. inocentii* cobrem pequenos trechos do solo prêto-humífero desta comunidade.

Atribuímos, sobretudo, a grande diversidade estrutural desta associação com as outras de Brusque às condições edáficas especiais ali existentes, pois a grande unidade inibe, de pronto, a instalação das espécies menos higrófitas características da vegetação regional. Vimos, porém, pela atual composição florística e pelo estudo comparativo em outras comunidades que, em passado não muito distante, a mata de São Pedro deveria ter sido muito mais úmida ou mesmo brejosa. A evidência dos fatos acima pode ser, fàcilmente, constatada pela presença de indivíduos adultos e velhos das espécies *Arecastrum Romansoffianum,*

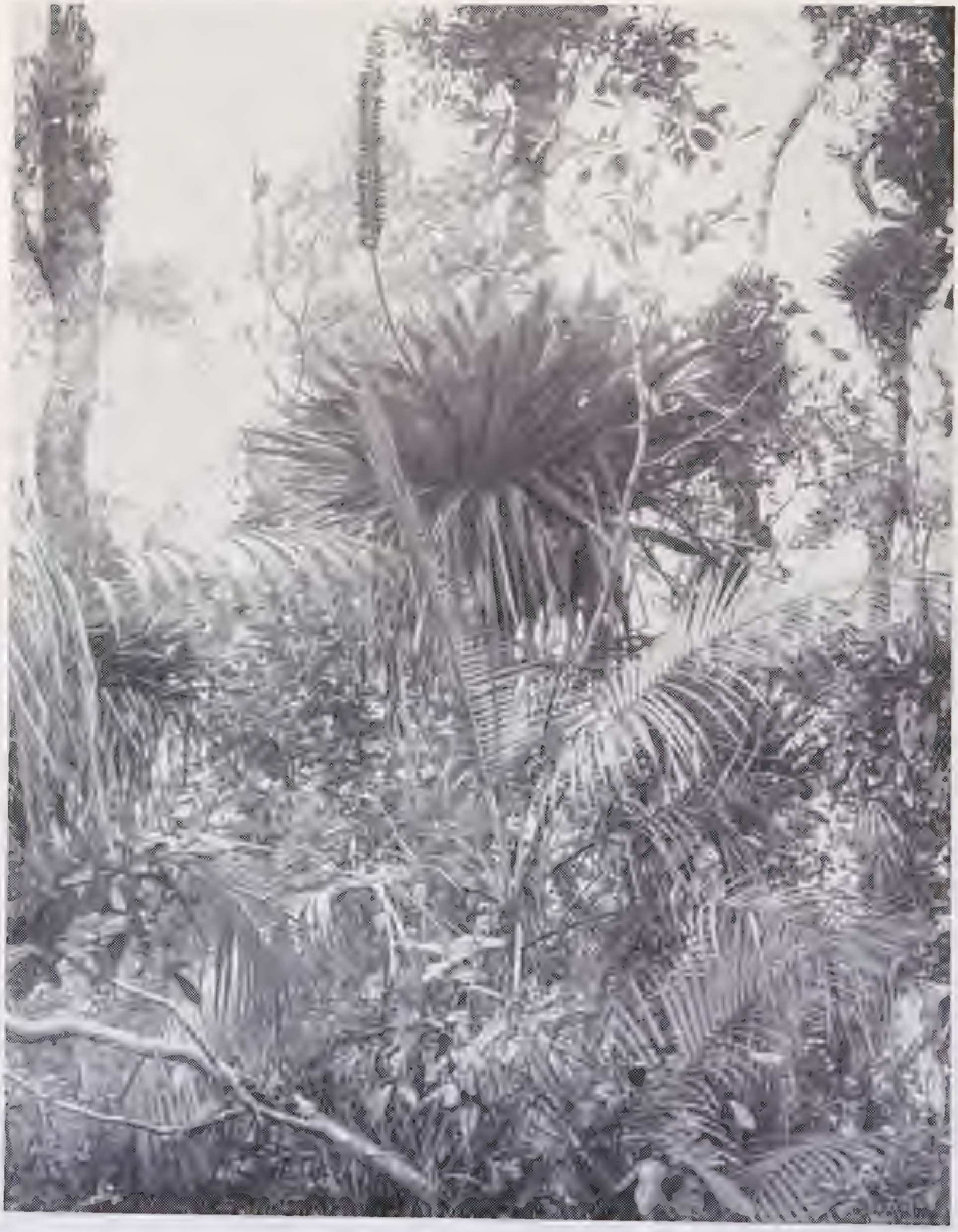


Fig. 7 — Vista de um grupo de indivíduos de *Vriesia Jonghii* prêso à macrofanerófita *Tabebuia umbellata*.

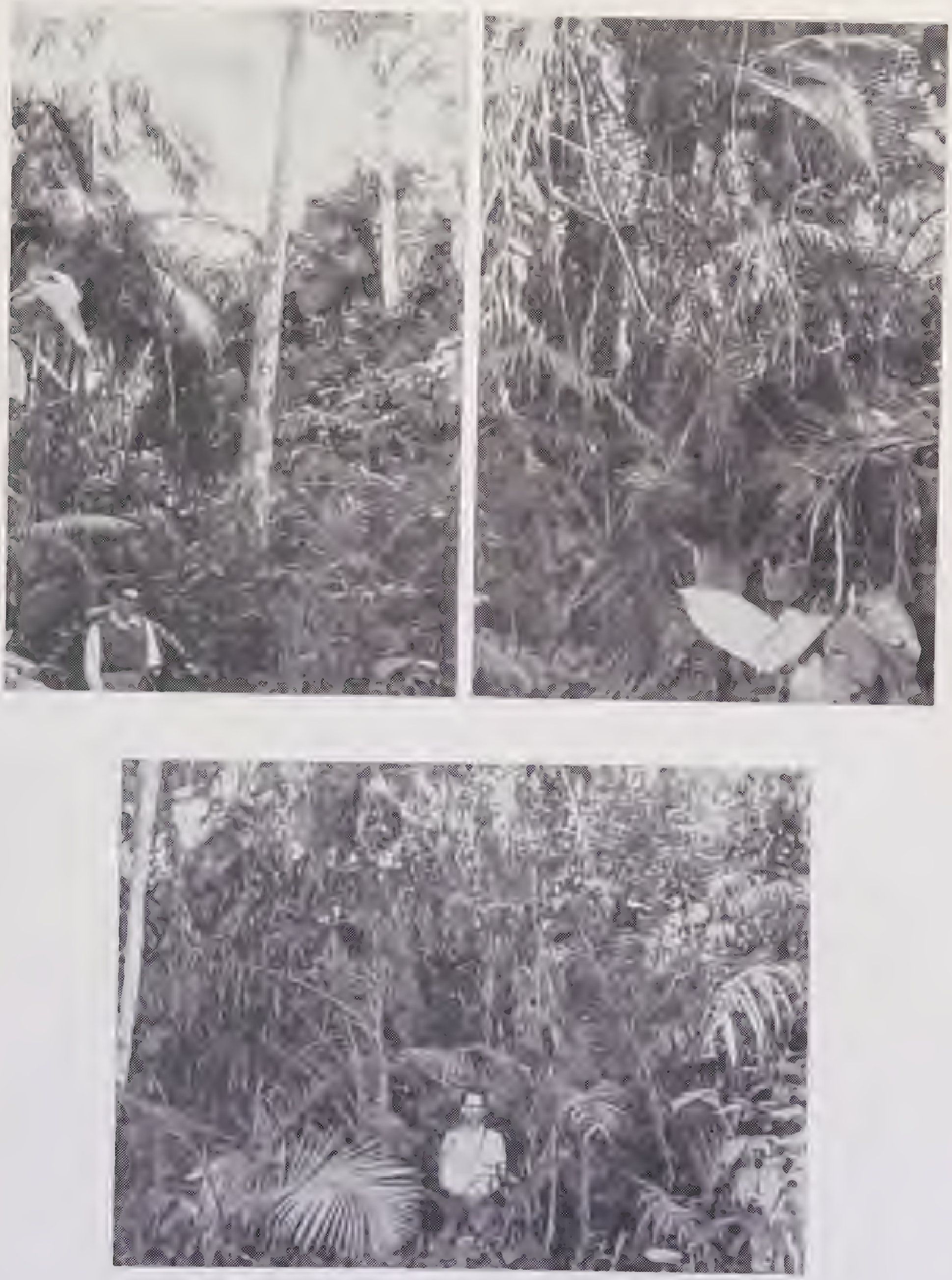


Fig. 8 — Vista do interior da mata de São Pedro.

Ficus subtriplinervia e *Alchornea triplinervia*, pois, em quase sua totalidade, os seus elementos jovens são encontrados nas comunidades estabelecidas em zonações brejosas.

Procuramos assinalar, em nosso levantamento fitossociológico, qual o papel desempenhado pelas espécies fanerófitas como hospedadores das bromeliáceas epífitas, pois, sendo elas os criadouros naturais das *Kerteszia* em estudo, consignamos a existência de elementos arbóreos que podiam ou não ser considerados como seletivos. Constatamos, assim, dentro da área em trabalho, oito espécies responsáveis pela grande densidade "bromelícola" da mata e, lògicamente, embora sejam apenas hospedadores dos criadouros epífitos, têm responsabilidade indireta na enorme abundância de alados.

Quadro I

COMUNIDADE DE SÃO PEDRO

LEVANTAMENTO DAS BROMELIÁCEAS (DISTRIBUIÇÃO VERTICAL)
EM UM QUADRADO DE 1 024 M^2

DADOS / ESPÉCIES	ALTURA em METROS						Total
	menos de 1	1 a 5	5 a 10	10 a 15	15 a 20	mais de 20	
Nidularium innocentii Lem. var. *Parianum* (Mez) L.B.Smith....	143	107	1				251
Vriesia incurvata Gaud..................................	28	204	4	1			237
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *Phelippocoburgii* Wawra	1	6	32	74	23	1	137
Vriesia Rodigasiana E. Morr..............................		1	6	22	22	45	96
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *vagans* L.B.Smith........		1	18	56	7	2	84
Aechmea nudicaulis (L.) Griseb. var. *cuspidata* Baker..........	3	5	7	23	17	1	56
Canistrum Lindenii (Regel) Mez...........................	2	18	12	4	1		37
Neoregelia laevis (Mez) L.B.Smith..........................	1	7	14	9	1		32
Vriesia Jonghii (Libon ex Koch) E. Morr..................		3	12	13	3		31
Aechmea cylindrata Lindm................................	1	8	4	2	2		17
Vriesia carinata Wawra....................................	1	3	1	1			6
Vriesia gigantea Gaud......................................		1	2	1	1		5
Bilbergia amoena Indl....................................		1					1
Tillandsia triticea Burchell ex Baker........................				1			1

Das fanerófitas, em número de oito, cobertas por centenas de bromeliáceas, seis são macrofanerófitas e duas são mesofanerófitas, sendo que as primeiras possuem indivíduos velhos e as duas últimas são representadas por dezenas de exemplares adultos e velhos. Podemos, contudo, afirmar que, nas matas do tipo São Pedro, existem duas espécies de árvores verdadeiramente responsáveis pela densidade "bromelícola" neste tipo de comunidade, seja por sua cobertura ou pelo seu largo esgalhamento, seja pelo porte avantajado de seus exemplares, ou ainda pela idade de seus indivíduos; enfim, acreditamos que talvez seja o conjunto dêstes fatôres a principal causa desta abundância de bromeliáceas. A verdade constatada, no entanto, é que os indivíduos de *Ficus subtriplinervia* hospedam a maioria das epífitas existentes na mata (mais de 60%) e os outros elementos arbóreos, apenas, hospedam cêrca de 20%, porque as restantes são espécies situadas a baixa altura, presas, em geral, aos arbustos, raízes, cipós, humus, etc., todos pertencendo às espécies *N. innocentii, V. incurvata* e *V. carinata,* formando cêrca de 20% das epífitas existentes na área trabalhada.

Quadro II

COMUNIDADE DO SÃO PEDRO

Altura — Circunferência

(DENSIDADE — ABUNDÂNCIA — VITALIDADE)

Formas biológicas	DADOS	ALTURA EM METROS											CIRCUNFERÊNCIA EM CENTÍMETROS											Densidade	Abundância	VITALIDADE			BROMELIÁC.		
	ESPÉCIES	0,00-1,99	2,00-3,99	4,00-5,99	6,00-7,99	8,00-9,99	10,00-11,99	12,00-13,99	14,00-15,99	16,00-17,99	18,00-19,99	+ 20,00	0-19	20-39	40-59	60-79	80-99	100-119	120-139	140-159	160-179	180-199	+ 200			Jovens	Adultos	Velhos	Não	Poucos	Muitas
M	*Tabebuia umbellata* Schum.	1	5	10	20	17	4						13	24	14	3	3							57	5,9	14	43		+		
M	*Inga affinis* DC.		3	3	4	7	2						7	4	7	1								19	2,0	13			+		
M	*Nectandra rigida* Nees		7	4	3	1							11	3	1									15	1,5	11	4		+		
M	*Coussapoa Schotti* Miq.	2	5	1	1	2							8	1	1		1							11	1,1	8	3			+	
M	*Rapanea umbellata* (Mart.) Mez				5	2								3	2	2								7	0,7		7				+
M	*Alchornea triplinervia* (Spreng.) Muell. Arg.		1	1		2	3						2		4		1							7	0,7	2	5			+	
M	*Hirtela hebeclada* Moric.			1	2		1							3	1									4	0,4	1	3			+	
M	*Caliptranthes obscura* DC.		1		2								1	2										3	0,3	2	1				+
M	*Endlecheria paniculata* (Spr.) Macbride		2	1									3											3	0,3	3			+		
M	*Andira anthelmintica* Benth.			1		1	1						1	1			1							3	0,3	1	2				+
M	*Torrubia offersiana* (Lk. Kl. et Otto) Stzndl. var. nitida (Heimer) Reitz	3											1	2										3	0,3	3			+		
M	*Dalbergia brasiliensis* Vog.				1									1										1	0,1		1	+			
M	*Buchenavia Kelinii* Exell		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Eugenia lepttoclada* Berg.			1									1											1	0,1	1			+		
M	*Ficus subtriplinervia* Mart.								1				1											1	0,1			1			+
Pm	*Aerecastrum Romansoffianum* (Cham.) Becc.	2	1				3	1					2	1	1	2	1							7	0,7		3	4		+	
Pmn	*Euterpe edulis* Mart.	47	30	20	28	7	5						83	51	3									137	14,1	86	51			+	
Pn	*Bactris Lindmaniana* Dr.	8	29	5									42											42	4,3		42		+		
Pn	*Geonoma Schottiana* Mart. var. *palustris* (Warm.) Dr.	14	3										17											17	1,7		17		+		
MN	*Marlierea tomentosa* Camb.	29	160	71	1	1							251	10	1									262	27,0	145	106	11		+	
MN	*Marlierea racemosa* (Vell.) Kiaer.	6	174	51	2								230	3										233	24,0	178	52	3		+	
MN	*Casearia silvestris* Sw.	1	6	2	1	1							8	2	1									11	1,1	9	2			+	
MN	*Guarea verrunculosa* C. DC.	1	6	3									10											10	1,0	8	2		+		
MN	*Funifera fasciculata* Meissn.	1	5	1	2								7	2										9	0,9	7	2		+		
MN	*Posoqueria latifolia* (Rudge) R A P		8										8											8	0,8	8				+	
MN	*Ocotea teleiandra* (Meissn.) Mez	1	2	2	1									5	1									6	0,6	5	1		+		
MN	*Gomidesia spectabilis* (DC.) Berg	1	1	1	2								1	3										4	0,4	2	2			+	
MN	*Miconia budlejoides* Tr.		3										3											3	0,3				+		
MN	*Psycotria alba* R. Á P.		1	1	1								2	1										3	0,3	2	1			+	
MN	*Eugenia psidiflora* Berg.		1	1									1	1										2	0,2	1	1		+		
MN	*Rapanea ferruginea* R. Á P. Mez.				1								1											1	0,1		1	+			
MN	*Ouratea parviflora* (DC.) Baill.		1										1											1	0,1	1			+		
MN	*Sloanea lasiocoma* Schum.			1									1											1	0,1	1			+		
Cn	*Alsophila phalerata* Mart.													1										1	0,1	1				+	
N	*Mollinedia uleana* Perk. e *M. triflora* Tul.	7	43	4									53	1										54	5,5	42	11	1		+	
N	*Faramea montividensis* (DC.) Cham. Á Schl.	2	7	5									13	1										14	1,4	6	7	1		+	
N	*Psichotria sutcrella* Muell. Arg.	2	6										8											8	0,8	6	2		+		
N	*Rudgea jasminoides* Muell. Arg.		1										1											1	0,1	1			+		
N	*Piper Gaudichadianum* Kunth.	1											1											1	0,1	1			+		
	TOTAL	**129**	**513**	**191**	**77**	**41**	**19**	**1**	**1**				**799**	**122**	**36**	**8**	**7**							**972**	**99,6**	**566**	**385**	**21**	**20**	**14**	**5**

Comunidade do Mueller — Num núcleo dos raros remanescentes da grande mata que havia ao longo do rio Itajaí-mirim, instalamos a Estação de estudos do Mueller. Situada à margem direita do rio e a seis quilômetros da cidade, no local denominado Limeira, com cêrca de 36 000 metros quadrados, a comunidade ocupa o terraço aluvial mais antigo. No trecho do vale, onde realizamos os estudos, existem dois níveis de erosão: o primeiro terraço, mais baixo e estreito, sofrendo inundações constantes, é coberto por vegetação arbustiva e bastante higrófila, sem bromeliáceas e dominado por uma das poucas espécies fanerófitas gregárias da região — *Mimosa bimucronata* (DC.) O. Ktze.; e o segundo, mais alto e largo, é ocupado pela mata ciliar ou de galeria, com milhares de bromeliáceaes, cuja associação composta de 89 espécies de fanerófitas, demonstra a sua heterogeneidade. Segundo informações fidedignas, houve, na época da colonização intensa, intervenção humana para retirada de algumas madeiras de lei; daí considerar a comunidade como fazendo parte da *prisera* com intervenção parcial e — tratando-se de mata situada às margens do rio Itajaí-mirim, sofrendo inundações periódicas e em terreno com ótima drenagem —, classificá-la como "serclímax da Formação pluvial do sul do Brasil".

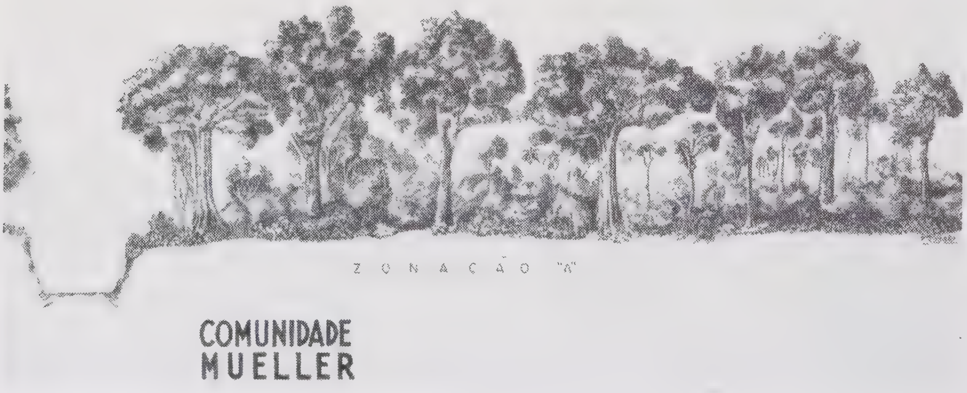


Fig. 9 — Perfil da Comunidade do Mueller.

Demarcamos, nesta mata, uma área de 2 640 m^2, aproveitando desta um quadrado de 32 por 32 metros, subdividido em pequenas áreas de 16 m^2, onde foram mensurados todos os indivíduos aí existentes. No quadro de 1 024 m^2, durante o ciclo compreendido entre os meses de janeiro a dezembro de 1950, realizamos pesquisas larvárias em 2 154 criadouros potenciais ou não de 12 espécies de bromeliáceaes. No levantamento fitossociológico realizado no mesmo, constatamos apenas 64 espécies das 89 encontradas para a comunidade do Mueller. Dos componentes desta área, 32 eram macrofaneróticas (M.), 2 palma-fanerófitas (sendo 1 Pmm. e 1 Pn.), 21 mesofanerófitas (M.), 7 nanofanerófitas

(N.), 1 ciáteaptèridófila (Cn.) e 1 geófita (G.). Dêstes elementos, apenas 20 têm altos valores associativos, pois as outras espécies, embora tenham valores de índices, possuem abundâncias e freqüencias menores que 10%. As espécies mais características da comunidade, se assim podemos dizer, dão um sentido de convergência para o clímax, isto é, a associação, no seu estado presente, faz parte integrante da *sera* regional, pertencendo ainda ao serclímax mas, como seu atual equilíbrio foi rompido — diminuição das inundações periódicas —, caminha para uma das fases de sucessão mais mesóticas da Formação.

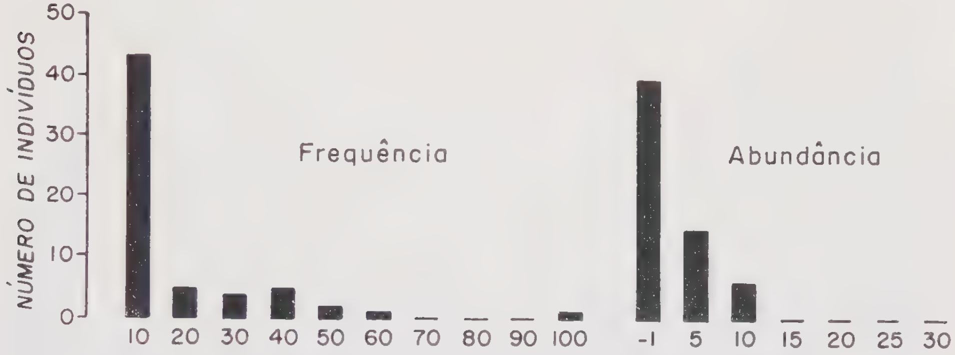


Gráfico 2 — Freqüência e abundância na comunidade do Muller.

Dominando o estrato arbóreo, encontramos as espécies: *Sloanea guianensis, Euterpe edulis, Gomidesia spectabilis, Pouteria venosa, Alchornea triplinervia* e *Brosimopsis lactescens,* tôdas com indivíduos numèricamente expressivos, porém, quanto ao porte e cobertura, as três últimas são bem mais significativas, imprimindo à associação um "facies da mais pujante mata da região". Não existem, aparentemente, elementos que possam ser considerados como subdominantes, pois, além dos seis dominantes, constatamos 17 espécies com 1 e 2 indivíduos representados neste estrato. Destas, apenas, as macrofanerófitas *Marlierea silvatica, Cabralea glaberrima, Capsicodendron pimenteira, Marlierea parviflora* e *Cryptocarya moschata* estão em perfeito equilíbrio com o atual microclima da mata. Os restantes componentes do estrato: *Nectandra oppositifolia, Virola oleifera, Jaracatia dodecaphylla, Seguieria Glaziovii, Ficus anthelminthica, Chrysophyllum inornatum* e *Cecropia adenopus* são espécies com grande área de dispersão ou que estão sendo substituídas, isto é, estando o solo úmido por ser bem drenado e haver inundações mais espaçadas, os elementos mais higrófilos estão cedendo lugar aos menos exigentes quanto à umidade; no caso, está incluída a macrofanerófita dominante *Alchornea triplinervia* que, além disso, demonstra a existência de maior umidade no passado da comunidade. Encontramos, no levantamento, como índice do caminhamento da mata numa direção mais mesófita, vários indivíduos ainda jovens de algumas espécies bem características do clímax da Formação, assim por exemplo: *Vantana contracta, Buchenavia Kleinii, Matayba guianensis, Macherium aculeatum, Calycorectes Shottianum, Myrcia pubipetala* e várias espécies dos gêneros *Ocotea* e *Nectandra.*

No estrato das arvoretas, encontramos dominando as espécies: *Gomidesia spectabilis* e *Sloanea guianensis*; como subdominantes os indivíduos dos elementos da mata: *Marlierea tomentosa, Sorocea ilicifolia* e *Calyptranthes obscura.* As outras espécies que fazem parte do presente estrato são integradas por exemplares velhos das fanerófitas, adultos e velhos, das mesofanerófitas e adultos das macrofanerófitas. Das dominantes, a que empresta maior importância, seja pelo

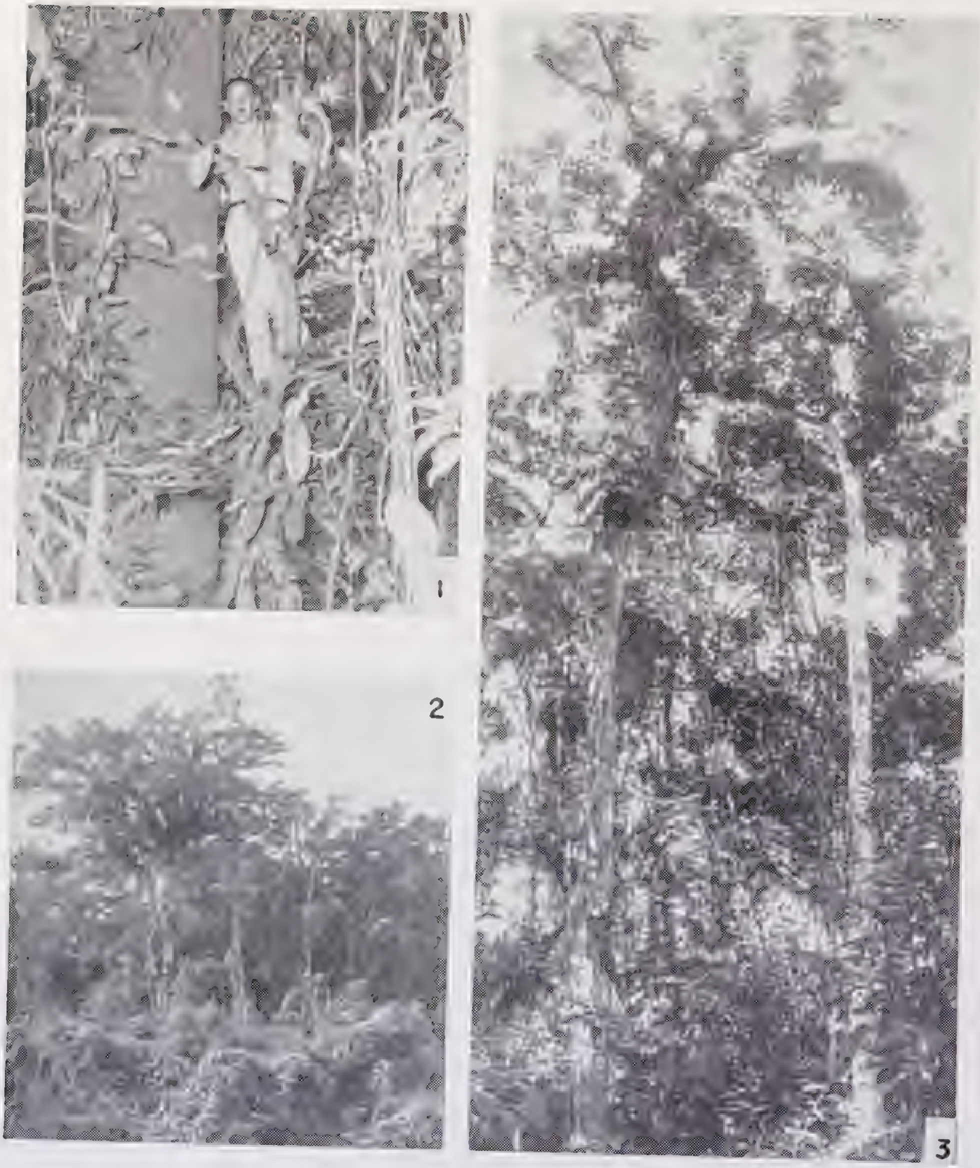


Fig. 10 — Vistas dos componentes do estrato arbóreo da comunidade do Mueller: 1 — Um tronco de *Jacaratia dodecaphylla*, 2 — vista parcial da mata e 3 — *Brosimopsis lactescens*.

Como Flora espelha, provàvelmente, o atual ciclo climático regional, os mais recentes rebaixamentos do grande vale e conseqüente abaixamento paulatino das águas do rio Itajaí-mirim, como provam os novos terraços aluviais cobertos pela Mimosa bimucronata, *demonstram, presumivelmente, a existência de atuais flutuações climáticas, refletidas na mudança da composição e estrutura da vegetação. Acreditamos, contudo, embora a comunidade esteja na dependência quase que exclusiva do regime das águas do rio Itajaí-mirim, que a*

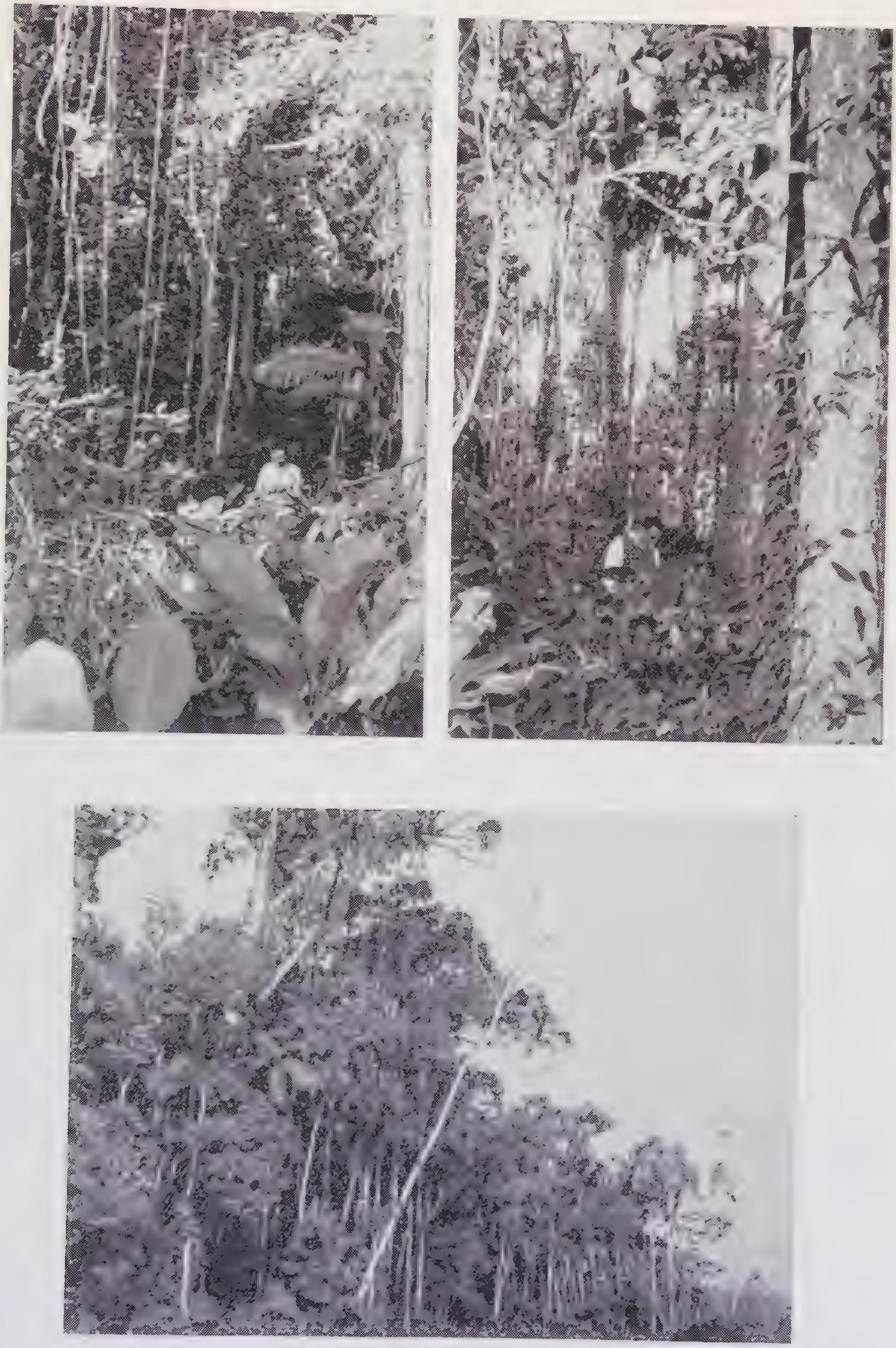


Fig. 11 — Vistas parciais da mata do Mueller, mostrando o interior com os troncos, bastante uniformes, de *Sloanea guianensis*.

porte, seja pela cobertura é a *Sloanea guianensis,* pois as outras espécies, além de não terem o mesmo valor fitossociológico, estão em fase de substituição, isto é, aparentemente, seus indivíduos, que em épocas não muito remotas, estavam em estado de vitalidade ótima, estão agora sofrendo com a falta de umidade, de acôrdo com as suas exigências, do solo.

O estrato arbusitvo, composto pelas nanofanerófitas adultas e velhas e, também, pelos indivíduos jovens das espécies meso, palma e macrofanerófita, não possuem uma dominância distinta. Assim é que as espécies *Mollinedia uleana, M. triflora, Psychotria suterella* e *Rudgea jasminoides* (nanofanerófitas), *Euterpe edulis* (palma-fanerófita), *Sorocea ilicifolia, Marlierea racemosa* e *Trichilia Casarettii* (mesofanerófitas), e *Sloanea guianensis* (macrofanerófita) apresentam-se, mais ou menos, com os mesmos valores de abundância e freqüência, embora, em cobertura, os exemplares adultos e velhos de *Mollinedia* sejam mais importantes. A espécie *Qüina Glaziovii* exclusiva, na região, das matas ciliares, foi por nós durante muito tempo confundida com a *Coccoloba rubra* que, além de ser comum nas zonações situadas no alto das dobras de Brusque, se distribui por tôda região "bromélia-malária". Constatamos, também, em tal estrato, várias espécies jovens próprias das associações úmidas, como exemplo: *Rheedia Gardneriana, Maytenus alaternoides, Mouriria Chamissoniana,* etc., o que, acreditamos, prova uma invasão de elementos mais mesófitos na comunidade serclímax do Mueller.

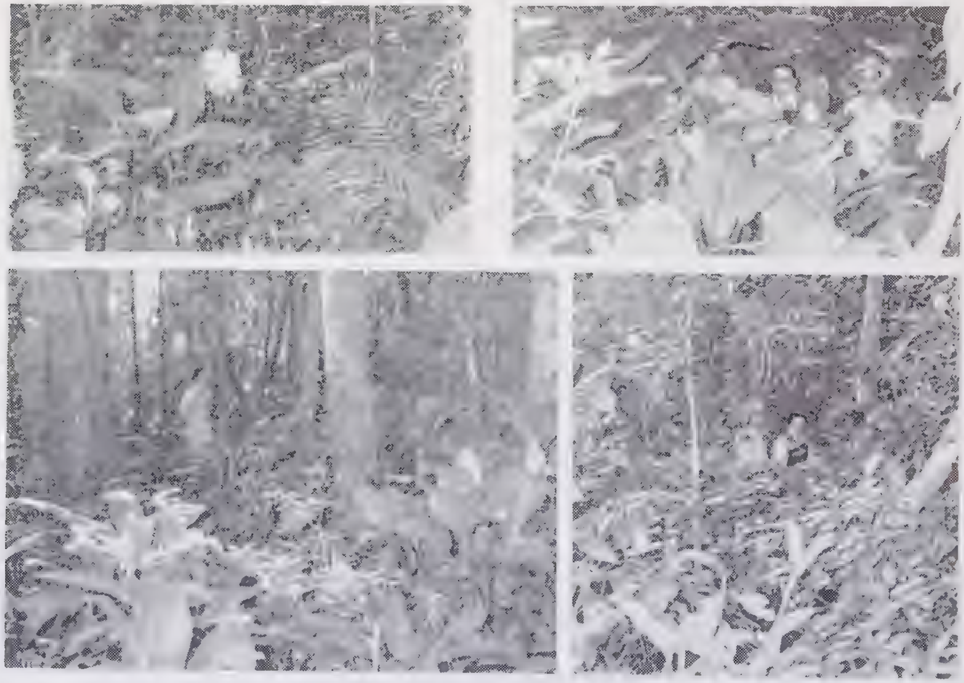
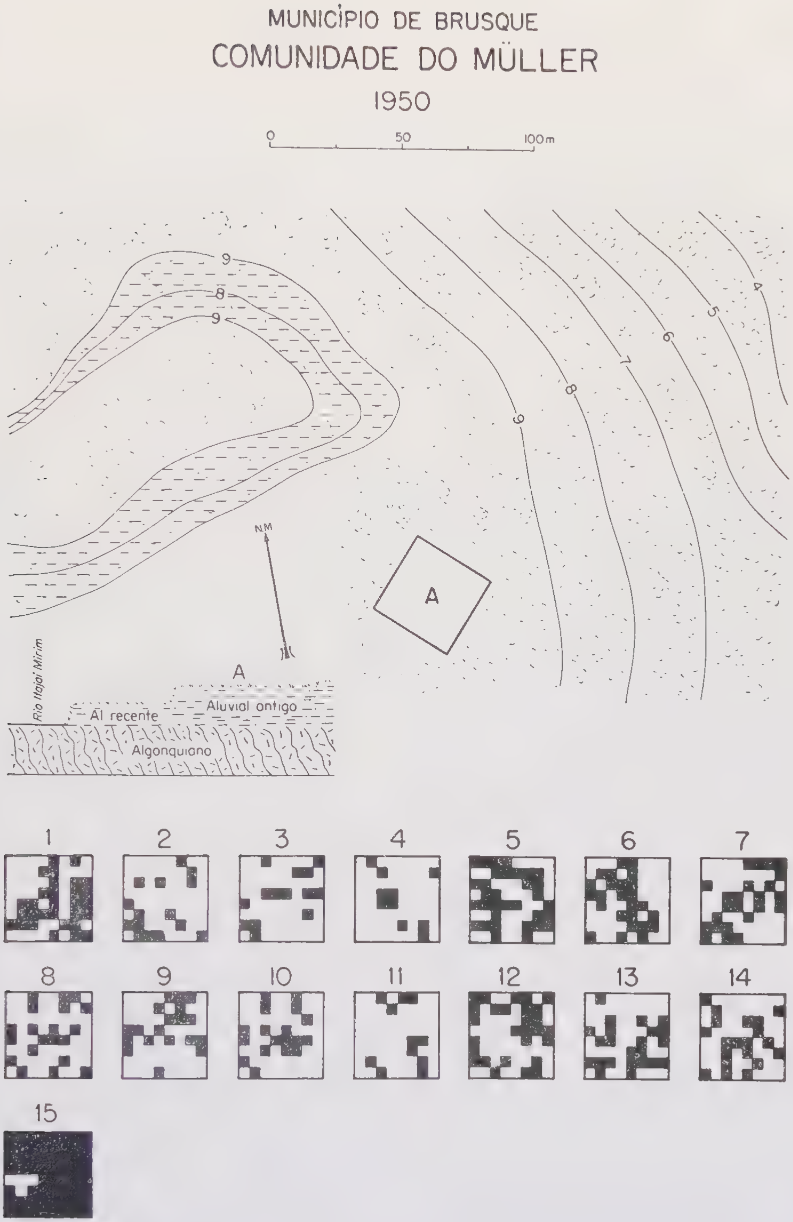


Fig. 12 — Vistas mostrando a *Rudgea jasminoides* e a *Galathea zebrina.*

O estrato herbáceo é constituído quase que exclusivamente pela geófita *Galathea zebrina* que cobre o solo com suas touceiras de fôlhas enormes, donde emergem as plântulas das espécies fanerófitas. As poucas clareiras existentes no estrato herbáceo são provenientes dos galhos, troncos e grandes touceiras de bromeliácas que, caindo ao solo, matam e inibem temporàriamente o ressurgimento desta geófita.



Mapa 5 — Levantamento topográfico, mostrando a localização do quadrado e, em baixo, a distribuição das espécies dominantes na área de estudo.

Nomenclatura:

1 = *Sloanea guianensis* (Aubl.) Benth. *M*. (5)
2 = *Torrubia olfersiana* (Lk., Kl. et Otto Standl. var. *nitida* (Heimerl) Reitz *M*. (32)
3 = *Calyptranthes obscura* DC. *M* (4).
4 = *Marlierea silvatica* (Gardn.) Kiaer. *M*. (20)
5 = *Euterpe edulis* Mart. *Pmn*. (E.)
6 = *Gomidesia spectabilis* (DC.) Berg. *MN*. (6)
7 = *Sorocea ilicifolia* Miq. *MN*. (21)
8 = *Marlierea tomentosa* Camb. *MN*. (43)
9 = *Marlierea racemosa* (Vel.) Kiaer. *MN* (16)
10 = *Trichilia Casarettii* C. DC. *MN*. (57)
11 = *Quina Glaziovii* Engler *MN*. (33)
12 = *Mollinedia Uleana* Perk e *M. triflora* Tul. *N*. (11)
13 = *Psychotria suterella* Muell. Arg. *N*. (23)
14 = *Rudgea jasminoides* Muell. Arg. *N*. (110)
15 = *Galathea zebrina* (Sims) Lindl. *G*. (C.)

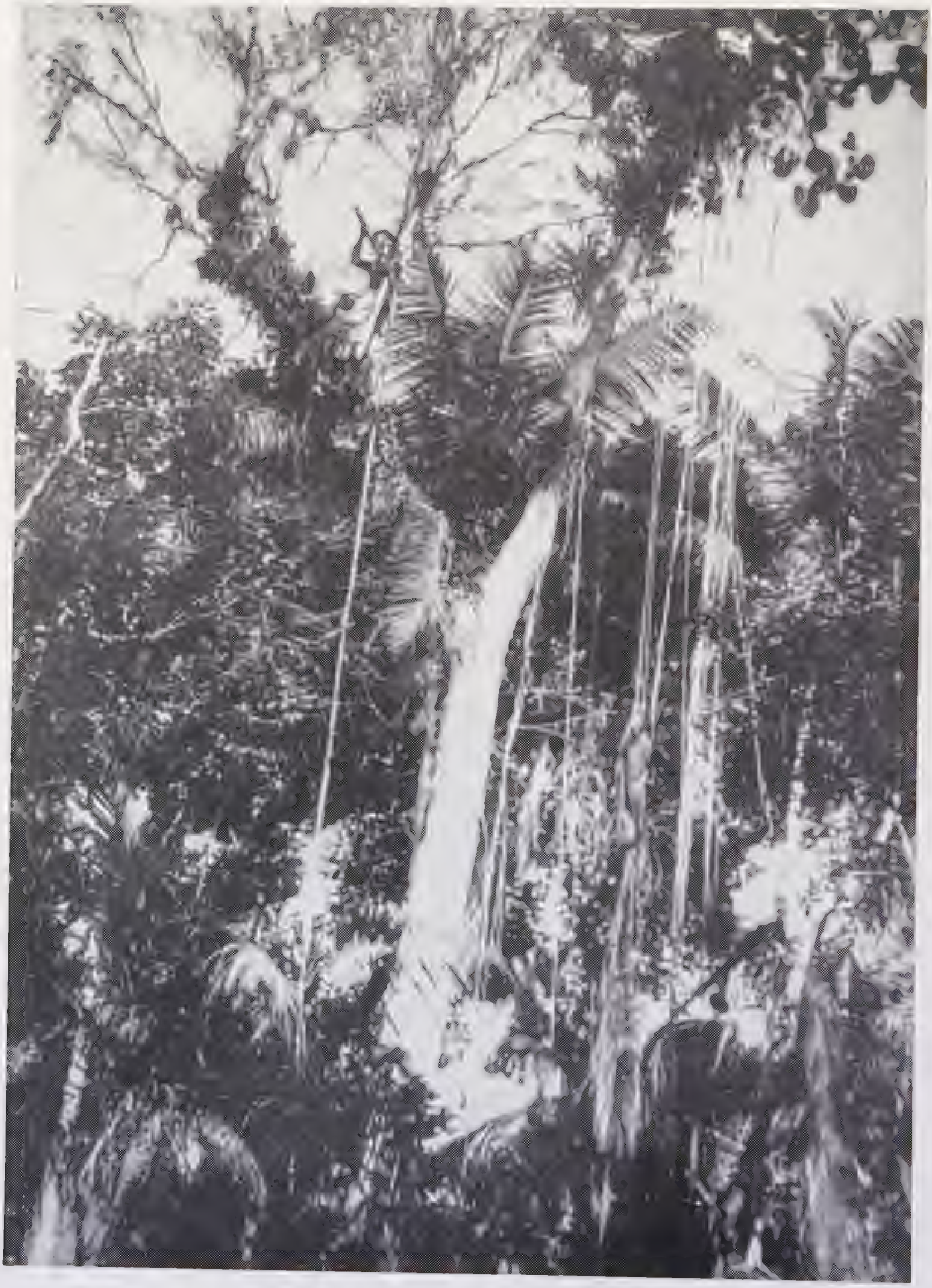


Fig. 13 — A espécie *Ficus anthelmintica* coberta pelas bromeliáceas epífitas.

Como a Flora espelha, provàvelmente, o atual ciclo climático regional, os mais recentes rebaixamento do grande vale e conseqüente abaixamento paulatino das águas do rio Itajaí-mirim, como provam os novos terraços aluviais cobertos pela Mimosa bimucronata, *demonstram presumìvelmente, a existência de atuais flutuações clmáticas, refletidas na mudança da composição e estrutura da vegetação. Acreditamos, contudo, embora a comunidade esteja na dependência quase que exclusiva do regime das águas do rio Itajaí-mirim, que a sensível mudança dêste regime e conseqüentes modificações fitossociológicas havidas recentemente, seja por flutuações climáticas, seja por causa das grandes devastações realizadas nas cabeceiras dos rios, indicam claramente forte tendência sucessional em direção ao estabelecimento, em ótimo de vida, de espécies menos exigentes quanto à unidade do solo.*

Encontramos, na mata do Mueller, 12 espécies de fanerófitas que hospedavam centenas de bromeliáceas, sendo que destas se destacavam, pelo porte e número de epífitas, as seguintes: *Ficus anthelmintica* (com um indivíduo velho, tão coberto de bromeliáceas, que foi impossível se fazer uma estimativa), *Jaracatia dodecaphylla* (com dois exemplares velhos, hospedando cêrca de duas centenas de epífitas), *Brosimopsis lactescens* (com quatro indivíduos velhos, talvez a árvore mais alta da região, com cêrca de três centenas de bromeliáceas), *Alchornea triplinervia* (também com quatro exemplares velhos cobertos por, mais ou menos, duas centenas de epífitas), *Pouteria venosa* (com cinco indivíduos velhos carregados por várias dezenas de bromeliáceas) e, finalmente, *Chrysophyllum inornatum* (com dois exemplares velhos bem cobertos por epífitas). Constatamos, além destas, outras que, por causa do número de indivíduos velhos existentes no quadrado, cresceram de importância quanto a servirem de hospedeiros às bromeliáceas, embora, por exemplar, não hospedassem muito mais de uma dezena de epífitas, — *Sloanea guianensis* (com nove indivíduos) e *Gomidesia spectabilis* (com cinco exemplares).

Das muitas espécies constatadas nesta comunidade, a mais importante, pela densidade, abundância, sociabilidade e porte, formando por vêzes touceiras com mais de 20 indivíduos, é sem dúvida a *Vriesia Phelippocoburgii* var. *Phelippocoburgii* que contribui com cêrca de 28% das epífitas existentes. As outras espécies, igualmente numerosas, são bem menos abundantes.

Quadro III

COMUNIDADE DO MUELLER

LEVANTAMENTO DAS BROMELIÁCEAS (DISTRIBUIÇÃO VERTICAL) EM UM QUADRADO DE 1 024 M²

DADOS / ESPÉCIES	ALTURA em METROS						Total
	menos de 1	1 a 5	5 a 10	10 a 15	15 a 20	mais de 20	
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *Phelippocoburgii* Wawra	4	6	12	69	109	81	281
Vriesia carinata Wawra		9	48	148	5		210
Aechmea nudicaulis (L.) Griseb. var. *cuspidata* Baker	12	30	56	13			111
Aechmea cylindrata Lindm.		13	47	34	5		108
Vriesia incurvata Gaud.	4	41	21	1			67
Canistrum Lindenii (Regel) Mez	1	9	15	32	8		65
Nidularium innocentii Lem. var. *Paxianum* (Mez) L.B.Smith	17	44	3				64
Vriesia Rodigasiana E. Morr.					11	22	33
Vriesia Jonghii (Libon ex Koch) E. Morr.			2	3	7	6	18
Wittrockia superba Lindm.			1	9	1		11
Neoregelia laevis (Mez) L.B.Smith			1	9	1		11
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *vagans* L.B. Smith			2	4	3		9
Vriesia gigantea Gaud.						7	7
Hohenbergia augusta (Vell.) Mez				3			3
Tillandsia triticea Burchell ex Baker					1		1

Encontramos, além desta, milhares de exemplares do gênero *Tillandsia* que, sem condições de armazenamento de água, com exceção da *T. triticea,* não são criadouros em potencial das formas aquáticas das três espécies do subgênero *Kerteszia*.

Quadro IV —

COMUNIDADE DO MUELLER

Altura — Circunferência

(DENSIDADE — ABUNDÂNCIA — VITALIDADE)

Formas biológicas	DADOS	ALTURA EM METROS											CIRCUNFERÊNCIA EM CENTÍMETROS											Densidade	Abundância	VITALIDADE			BROMELIÁC.		
	ESPÉCIES	0,00-1,99	2,00-3,99	4,00-5,99	6,00-7,99	8,00-9,99	10,00-11,99-	12,00-13,99	14,00-15,99	16.00-17,99	18,00-19,99	+ 20,00	0-19	20-39	40-59	60-79	80-99	100-119	120-139	140-159	160-179	180-199	+ 200			Jovens	Adultos	Velhos	Não	Poucos	Muitas
M	*Sloanea guianensis* (Aubl.) Benth.	3	21	13	7	3	7	1					38	6	4	4	2	1						55	9,8	33	13	9			+
M M	*Torrubia olfersiana* (Lk., Kl. et Otto) Standl. var. *nitida* Reitz	6	9	2	2	1	1						17	2		1	1							21	3,7	17	3	1			+
M	*Calyptranthes obscura* DC.	1	5	5	4	1							9	6		1								16	2,8	9	7			+	
M	*Marlierea silvatica* (Gardn.) Kiaer		8	2			1	1					10			1	1							12	2,1	[illegible]	1	2			+
M	*Pouteria venosa* (Mart.) Baehni		2		1	1	2	1		1			2		2		2	1		1				8	1,4	2	1	5			+
M	*Endlicheria paniculata* (Spr.) Macbride	1	4	1	1								6	1										7	1,2	6	1			+	
M	*Cariniana estrelensis* (Raddi) O. Katze		4	1	1	1							5	2										7	1,2	5	2			+	
M	*Cabralea glaberrima* A. Juss.		3	2		1							5		1									6	1,1	5		1			+
M	*Talauma ovata* St. Hil.	1	2			1							3	1										4	0,7	3	1		+		
M	*Brosimopsis lactecens* S. Moore					1	1	1				1	1		1	1							1	4	0,7			4			+
M	*Alchornea triplinervia* (Spreng.) Muell. Ar.							1	2	1							1	1	2					4	0,7			4			+
M	*Nectanda oppositifolia* Nees				2			1	1					2			2							4	0,7		2	2			+
M	*Capsicodendron pimenteira* Hoehne		2				1						2		1									3	0,5	2	1			+	
M	*Chrysophyllum inornatum* Mart.			1			1		1				1			1			1					3	0,5	1	1	1			+
M	*Calycoretes Schottianus* Berg		2	1									3											3	0,5	3			+		
M	*Marlierea parviflora* Berg.		1	1			1						3											3	0,5	3			+		
M	*Vantana contracta* Urb.		3										3											3	0,5	3			+		
M	*Virola oleifera* (Schott.) A. C. Sm.				1		1						1	1										2	0,3	2			+		
M	*Gomidesia tijucensis* (Kiaer) Legr.				1			1						1				1						2	0,3		1	1		+	
M	*Bucheneria Kleinii* Excell.			1	1								1	1										2	0,3	2			+		
M	*Jaracatia dodecaphylla* (Vell.) A. DC.								1		1											1	1	2	0,3			2			+
M	*Cryptocaria moschata* Mart.		1					1					1			1								2	0,3	1	1			+	
M	*Eugenia oblongata* Berg.							1										1						1	0,2			1	+		
M	*Campomanesia catharinae* Legr.			1											1									1	0,2	1			+		
M	*Dalbergia brasiliensis* Vog.							1							1									1	0,2		1			+	
M	*Seguieria Glaziovii* Briq.						1										1							1	0,2		1			+	
M	*Matayba guianensis* Aubl.		1										1											1	0,2	1			+		
M	*Ficus anthelmintica* Mart.							1										1						1	0,2			1			+
M	*Inga uruguensis* Hook. et		1										1											1	0,2	1			+		
M	*Aspidosperma camporum* Mart.		1										1											1	0,2	1			+		

Quadro IV (continuação)

Formas biológicas	DADOS ESPÉCIES	ALTURA EM METROS											CIRCUNFERÊNCIA EM CENTÍMETROS											Densidade	Abundância	VITALIDADE			BROMELIÁC.		
		0,00-1,99	2,00-3,99	4,00-5,99	6,00-7,99	8,00-9,99	10,00-11,99	12,00-13,99	14,00-15,99	16,00-17,99	18,00-19,99	+ 20,00	0-19	20-39	40-59	60-79	80-99	100-119	120-139	140-159	160-179	180-199	+ 200			Jovens	Adultos	Velhos	Não	Poucos	Muitas
M	*Macherium aculeatum* Raddi		1										1											1	0,2	1			+		
Pmn	*Euterpe edulis* Mart.	19	14	4		4	4	3	1				35	9	5									49	8,7	26	14	9		+	
Pn	*Bactris Lindmaniana* Dr.	2											2											2	0,3			2	+		
MN	*Gomidesia spectabilis* (DC.) Berg.	2	10	6	12	1	2	2					21	8	2	2	1	1						35	6,2	7	9	19			+
MN	*Sorocea ilicifolia* Miq.	7	12	8	4								25	6										31	5,5	14	9	8		+	
MN	*Marlierea racemosa* (Vell.) Kiaer	3	16	3	1								21	2										23	4,3	14	7	2		+	
MN	*Marlierea tomentosa* Camb.	2	9	5	5								16	5										21	3,7	6	6	9		+	
MN	*Trichilia Casaretti* C. DC.	3	16	2									21											21	3,7	18	3			+	
MN	*Quina Glaziorii* Eneer	2	8	1			2						10	1			2							13	2,3	8	4	1		+	
MN	*Ardisia catharinensis* Mez	5	4										9											9	1,6	9			+		
MN	*Inga marginata* Willd.		2	3	2								6	1										7	1,2	2	2	3		+	
MN	*Myrcia pubipetala* Miq.	1	3		1								5											5	0,9	4	1		+		
MN	*Guarea verrunculosa* C. DC.	1	4										5											5	0,9	5			+		
MN	*Mouriria chamissoniana* Cogn.	1	3										4											4	0,7	4			+		
MN	*Ouratea parviflora* (DC.) Baill.		3	1									3	1										4	0,7	3	1			+	
MN	*Psychotria alba* R. & P.		3										3											3	0,5	3			+		
MN	*Ocotea teleiandra* (Meissn.) Mez		3										3											3	0,5	2	1		+		
MN	*Casearia decandra* Jacq.			3									3											3	0,5		2	1		+	
MN	*Eugenia psidiflora* Berg.		3										3											3	0,5	1	2		+		
MN	*Licania* sp. (Catuteiro branco)		1	1									1	1										2	0,3	1	1		+		
MN	*Cecropia adenopus* Mart.		1										1											1	0,2			1	+		
MN	*Casearia silvestris* Sw.			1										1										1	0,2		1		+		
MN	*Cestrum amictum* Schl. var. *longiflorum* Sendt.		1										1											1	0,2		1		+		
MN	*Maytenus alaternoides* Reiss.		1										1											1	0,2		1		+		
MN	*Rheedia Gardneriana* Tr. & Pl.		1										1											1	0,2	1			+		
N	*Mollinedia uleana* Perk. *M. triflora* (Spr.) Tul.	9	29	11									43	6										49	8,7	29	14	16		+	
N	*Psychotria suterella* Muell. Arg.	14	27	2									41	2										43	7,6	30	12	1		+	
N	*Rudgea jasminoides* Muell. Arg.	8	13	4									25											25	4,4	14	9	2		+	
N	*Piper Gaudichaudianum* Kunth.	7	7										14											14	2,5	10	2	2	+		
N	*Faramea montividensis* (DC.) Cham. & Schl.	1	1										2											2	0,3	1	1		+		
Cn	*Alsophila phalerata* Mart.		1											1										1	0,2			1		+	
	TOTAL	99	267	86	46	15	25	16	6	2	1	1	440	67	18	12	13	7	3	1		1	2	564	99,6	323	141	101	28	21	12

Comunidade da Azambuja — A mata da Azambuja, cobrindo um vale fechado com declives bastante fortes e situada no quadrante sudoeste da cidade, é uma comunidade isolada com cêrca de 130 000 metros quadrados. A referida mata que, após a realização de nossos estudos, está reduzida a um núcleo, pelo desmatamento paulatino, foi escolhida como uma das nossas Estações de estudo, porque constituía uma das situações topográficas mais típicas da região "bromélia-malária". Verificamos, outrossim, que apesar da devastação contínua que ela vem sofrendo em sua periferia, o seu centro apresenta-se com tôdas as características sociológicas intactas. Vimos, mais atrás, que a umidade atmosférica e a intensidade luminosa são condições primordiais para a distribuição vertical das bromeliáceas e, assim sendo, num vale fechado, o microclima do sopé da dobra é bastante diferente daquele do meio e do alto da encosta, razão pela qual demarcamos uma faixa de estudo desde a base até o tôpo da mesma. Delimitamos, assim, quadrados de áreas aproximadas e, durante o período comprendido entre os meses de novembro de 1949 a outubro de 1950, estudamos 6 308 indivíduos dentre 17 espécies de bromeliáceas.

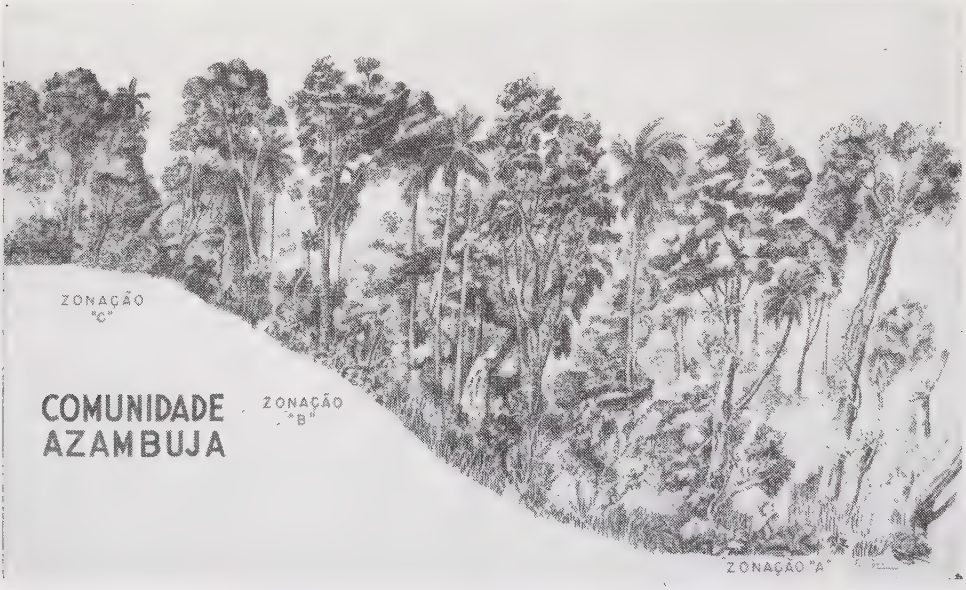


Fig. 14 — Perfil ideal da comunidade da Azambuja.

ZONAÇÃO "A"

Delimitamos, no talvegue do vale da Azambuja, uma área de 1 040 m^2, medindo 52 por 20 metros e subdividida em 65 pequenos quadrados com 16 m^2 cada. Efetuamos, nestas áreas, o levantamento fitossociológico, constatamos 86 espécies das 135 componentes da comunidade, sendo 45 macrofanerófitos (M.), 3 palma-fanerófitas (sendo 1 Pmn. e 2 Pn.), 27 mesofanerófitas (MN.), 2 ciatea-pteridófitas (Cn.), 8 nanofanerófitas (N.) e 1 geófita (G.). Não tomando em consideração as espécies raras e estranhas à zonação, encontramos 17 elementos com características sociológicas que, com abundâncias maiores que 1% e freqüências acima de 10%, imprimem à mata um "facies de heterogeneidade" nas sinusias de fanerófitas.

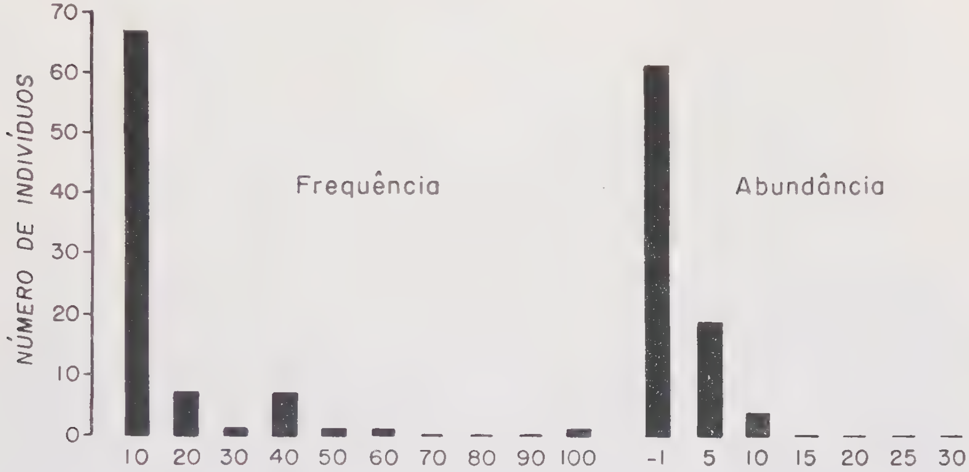


Gráfico 3 — Freqüência e abundância na zonação "A" do Azambuja.

Constatamos, como dominante do estrato arbóreo, a *Euterpe edulis* o que, sòmente, é percebido após acurada observação por causa de seu estipe delgado e copa rala. Encontramos como subdominantes as espécies *Alchornea triplinervia, Inga sessilis* e *Sloanea guianensis* tôdas com a mesma abundância mas com outros valores sociológicos diferentes, como cobertura, sociabilidade, vitalidade, etc. A primeira, pelo seu porte e cobertura, numa visão rápida, domina fisionômicamente a vegetação; a segunda e terceira, com porte e cobertura menos imponente, sòmente, após observação e estudo, são separadas dos elementos companheiros da comunidade.

Das 32 espécies que atingem o estrato arbóreo, 17 estão em pleno ótimo de vitalidade e 15 são elementos adultos e velhos pertencentes a outras comunidades menos evoluídas, raros, ou então, indicadores de uma vegetação passada que dominou, provàvelmente, em época mais úmida, nesta zonação topográfica. Do grupo de espécies com ótima vitalidade, pode ser notado o dominante *Euterpe edulis* e o subdominante *Sloanea guianensis* e, como companheiras, temos as macrofanerófitas *Gomidesia tijucensis, Brosimopsis lactescens, Aspidosperma camporum, Hirtella hebeclada, Tapirira guianensis, Endlicheria hirsuta, Calyptranthes obscura, Torrubia olfersiana* e as mesofanerófitas *Bathysa australis, Posoqueria latifolia, Maytenus alaternoides* e *Ocotea teleiandra*. No segundo grupo de espécies, incluímos as raras, isto é, as que, possuindo maior dispersão dentro da comunidade, são esporàdicamente encontradas, e as estranhas, ou melhor, as que estão sendo paulatinamente substituídas, ou por pertencerem a *seras* mais pioneiras, ou por fazerem parte de uma *sera* mais úmida. Os elementos raros constatados no levantamento são: *Xylopia brasiliensis, Cedrela fissilis, Nectandra rigida* e *Pterocarpus violaceus*. As espécies estranhas encontradas são: *Byrsonima lingustrifolia, Jacaranda puberula, Eugenia leptoclada, Calycorectes Schottianus, Aspidosperma olivaceum* e as subdominantes *Inga affinis* e *Alchornea triplinervia*.

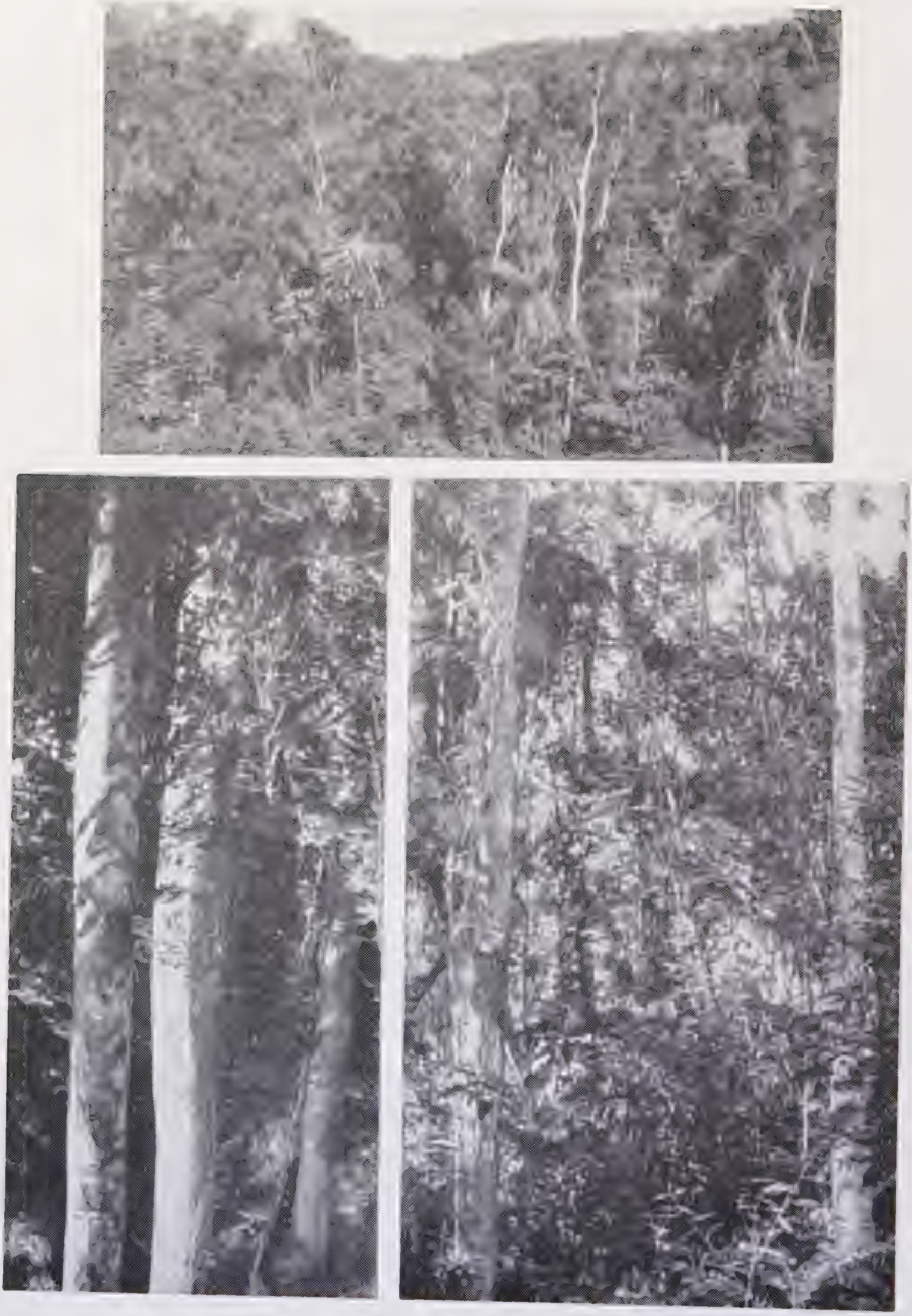
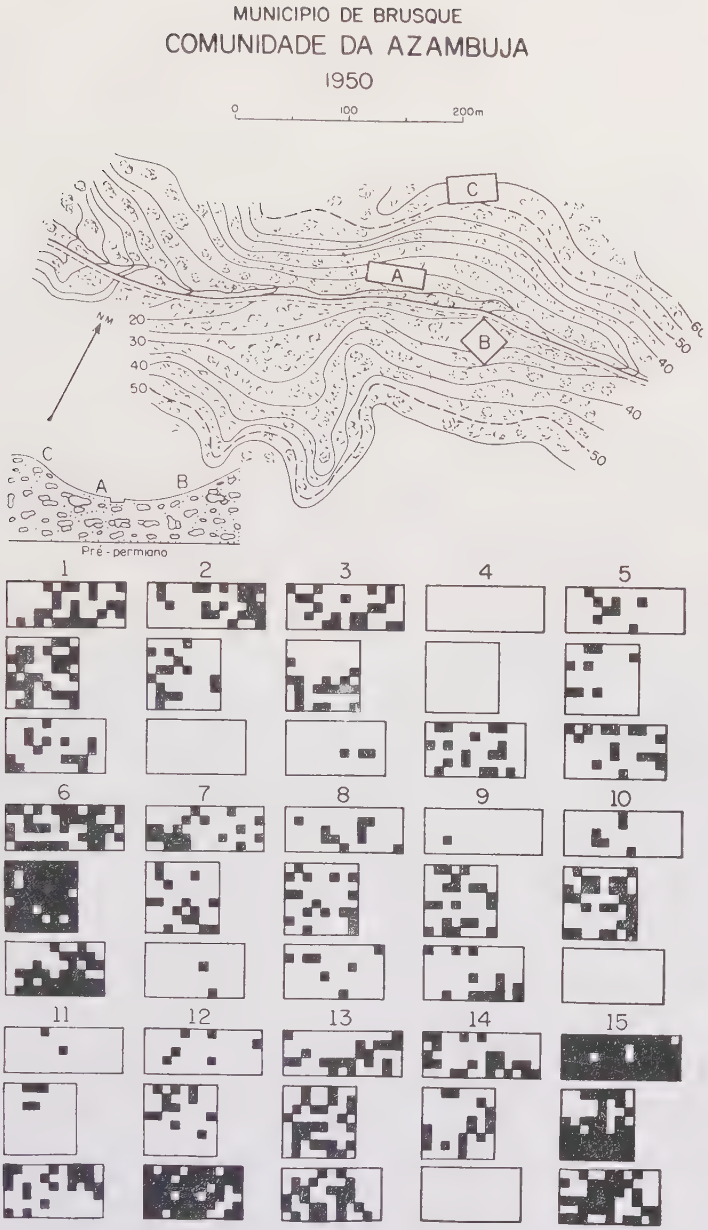


Fig. 15 — Vistas do interior da zonação "A", vendo-se os troncos de *Alchornea triplinervia*, *Sloanea guianensis* e outros. Uma vista parcial da mata do Azambuja.



Mapa 6 — Levantamento topográfico, mostrando a localização dos quadrados nas zonações e a distribuição das espécies dominantes nas áreas de estudos.

Nomenclaturas: Zonações "A", "B" e "C".

1 = *Sloanea guianensis* (Aubl.) Benth. *M.* (5)
2 = *Torrubia olfersiana* (Lk., Kl. et Otto) Standl. var. *nitida* (Heimerl) Reitz. *M.* (32)
3 = *Calytranthes obscura* DC. *M.* (32)
3 = *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez *M.* (62)
5 = *Tapirira guianensis* Aubl. *M.* (49)
6 = *Euterpe edulis* Mart. *Pmn.* (E.).
7 = *Gomidesia spectabilis* (DC.) Berg. *MN.* (6)
8 = *Rheedia Gardneriana* Tr. & Pl. *MN.* (9)
9 = *Actinostemon concolor* (Spr.) M.A. *MN.* (55)
10 = *Faramea montividensis* (DC.) Cham. & Schl. *N* (10)
11 = *Aparisthmium cordatum* (Juss.) Baill. *MN.* (30)
12 = *Geonoma Schottiana* Mart. *Pn.* (G.)
13 = *Mollinedia Uleana* Perk. e *M. triflora* Tul. *N.* (11)
14 = *Rudgea jasminoides* Muell. Arg. *N.* (110)
15 = *Galathea zebrina* (Sims) Lindl. *G.* (C.)

Encontramos dominando, no estrato médio (arvoretas), a *Sloanea guianensis* e a *Euterpe edulis,* evidentemente a primeira possui características bem mais acentuadas do que a segunda, pois, além da sua cobertura e porte com maiores valores, sua freqüência e densidade são mais elevadas. Como subdominantes temos as macrofanerófitas *Calyptranthes obscura, Torrubia olfersiana* e *Tapirira guianensis* e a mesofanerófita *Gomidesia spectabilis*. Como companheiras, além das macro e mesofanerófitas com ótima vitalidade, já citadas para o estrato arbóreo, encontramos dois grupos distintos: no primeiro incluímos os elementos mais característicos que, atualmente, estão entrando na associação e, no segundo, anotamos as espécies estranhas, seja porque faziam parte da *sera* mais úmida, seja por pertencerem a uma *sera* mais pioneira; o certo é que estão sendo substituídas por outras de exigências menos extremas.

Fazem parte do primeiro grupo as seguintes espécies: as macrofanerófitas *Marlierea silvatica, Cabralea glaberrima, Matayba guianensis, Seguieria Glaziovii, Buchenavia Kleinii* e as mesofanerófitas *Miconia holosericea, Hieronyma alchornioides* e as mesofanerófitas *Mouriria Chamissoniana, Marlierea tomentosa, Aparisthmium cordatum, Trichilia tetrapetala* e *Solanum acuminatum*. Constatamos, além dessas, com ótima vitalidade, a ciatéa-fanerófita *Hemitelia setosa* e as nanofanerófitas *Rudgea jasminoides, Mollinedia uleana* e *M. triflora,* sendo substituída a nanofanerófita *Piper Gaudichaudianum*.

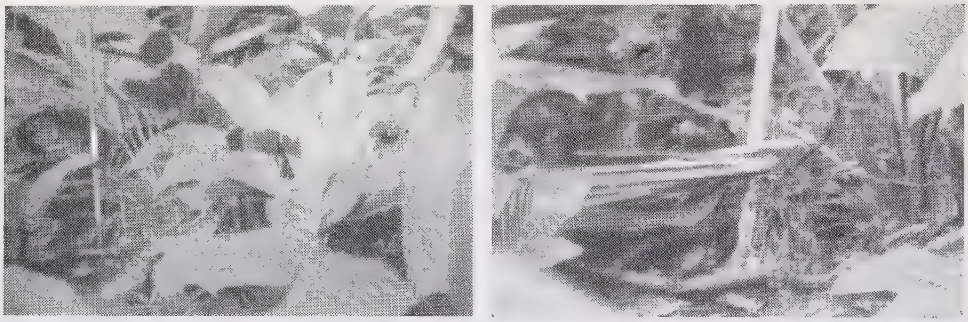


Fig. 16 — Vistas da Geófita *Galathea zebrina;* vendo-se, na primeira, a sua distribuição em touceiras e, na segunda, as raízes superficiais com os brotos emergindo, abaixo do nível do solo, do caule subterrâneo.

O estrato arbustivo é dominado pela mesofanerófita *Ocotea teleiandra* e pela nanofanerófita *Torrubia olfersiana,* as mesofanerófitas *Ardisia catharinensis* e *Gomidesia spectabilis* e as nanofanerófitas *Rudgea jasminoides, Mollinedia uleana* e *M. triflora*. Como companheiras, com alguma expressão sociológica, constatamos as macrofanerófitas *Sloanea guianensis, Calyptranthes obscura* e *Endlicheria paniculata*; a palma-fanerófita *Euterpe edulis*; as menofanerófitas *Rheedia Gardneriana* e *Esenbeckia grandiflora*; a ciatéa-fanerófita *Alsophila phalerata*; e, finalmente, as nanofanerófitas *Piper Richardiaefolium* e *Faramea montividensis*. Encontramos, além dessas espécies, várias macrofanerófitas recém-introduzidas na associação: *Amaiua guianensis, Ocotea indecora, Ardisia anthelmintica, Marlierea parviflora, Copaifera oblongifolia, Virola oleifera, Ocotea pretiosa, Platymicium floribundum* e *Cryptocarya moschata*; outras, sendo substituídas, como as mesofanerófitas *Marlierea racemosa, Miconia racemifera, Posoqueria latifolia, Actinostemon concolor, Sebastiania argustidens* e *Pourouma acutiflora*; e, algumas, em plena vitalidade, como as palma-fanerófitas *Geonoma Schottiana* var. *genuina* e *Bactris Lindmaniana* e as mesofanerófitas *Ouratea parviflora* e *Guarea verrunculosa*.

O estrato herbáceo é exclusivamente composto pela geófita *Galathea zebrina* que, com alto valor gregário, cobre totalmente o solo desta associação ainda bastante úmida.

Da observação e levantamento dos elementos hospedadores das bromeliáceas, podemos dizer que existem indivíduos abrigando maior número de epífitas do que outros, porém o verificado nesta zonação é semelhante ao encontrado nas comunidades precedentes, isto é, as espécies representadas pelos exemplares velhos são as que hospedam o maior número de bromeláceas. Assim sendo, assinalamos 15 espécies com cêrca de 48 indivíduos, hospedando mais de 35% das epífitas existentes na área estudada. Destas, podemos assinalar os elementos das fanerófitas *Alchornea triplinervia* e *Aspisdosperma camporum* que, com apenas 10 indivíduos velhos, servem de suporte a centenas de bromeliáceas, das espécies *Vriesia Jonghii, Canistrum Lindenii,* etc. Outrossim, condiciona um microclima propício à vida das espécies umbrófilas, como exemplo: *Nidularium innocentii* var. *Paxianum, Vriesia incurvata,* etc.

Quadro V

COMUNIDADE DA AZAMBUJA

Zonação "A"

LEVANTAMENTO DAS BROMELIÁCEAS (DISTRIBUIÇÃO VERTICAL) EM UM QUADRADO DE 1 040 M^2

DADOS ESPÉCIES	ALTURA em METROS						Total
	menos de 1	1 a 5	5 a 10	10 a 15	15 a 20	mais de 20	
Vriesia incurvata Gaud.	117	1 181	241	174	13		1 726
Nidularium innocentii Lem. var *Paxianum* (Mez) L.B.Smith	325	580	9	1			915
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *vagans* L. B. Smith	26	42	80	165	28		341
Vriesia Rodigasiana E. Morr.				17	72	58	147
Aechmea nudicaulis (L.) Griseb. var. *cuspidata* Baker			18	70	13		101
Neoregelia laevis (Mez) L.B.Smith		4	10	68	2		84
Aechmea cylindrata Lindm.	13	28	5				46
Vriesia carinata Wawra	17	19	6	1			43
Canistrum Lindenii (Regel) Mez			4	34	3		41
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *Phelippocoburgii* Wawra			13	19			32
Vriesia Jonghii (Libon ex Koch) E. Morr.	1	1	11	11	2		26
Bilbergia amoena Lindl.	1	4	9	1			15
Vriesia flammea L. B. Smith	1	9	1				11
Vriesia gigantea Gaud.			4	1	1	1	7
Wittrockia superba Lindm.				2			2

Quadro VI —

COMUNIDADE DA AZAMBUJA (ZONAÇÃO "A"

Altura — Circunferência

(DENSIDADE — ABUNDÂNCIA — VITALIDADE)

Formas biológicas	DADOS	ALTURA EM METROS											CIRCUNFERÊNCIA EM CENTÍMETROS											Densidade	Abundância	VITALIDADE			BROMELIÁC.		
	ESPÉCIES	0,00-1,99	2,00-3,99	4,00-5,99	6,00-7,99	8,00-9,00	10,00-11,00	12,00-13,99	14,00-15,99	16,00-17,99	18,00-19,00	+ 20,00	0-19	20-39	40-59	60-79	80-99	100-119	120-139	140-159	160-179	180-199	+ 200			Jovens	Adultos	Velhos	Não	Poucos	Muitas
M	*Sloaena guianensis* (Aubl.) Benth.	3	8	6	8	2	1	2	2				16	11	1		1	1	1	1				32	4,8	17	11				
M	*Torrubia olfersiana* (Lk., et Otto) Standl. var. *nitida* Reitz	10	13	3	2	1	1						25	4	1									30	1,5	26	4	4			+
M	*Calyptranthes obscura* DC.	3	12	10			1						23	2	1									26	3,9	19	6			+	
M	*Endlicheria paniculata* (Spr.) Macbride	1	9	3		1							13	1									14	2,1	10	3	1	1			+
M	*Tapirira guianensis* Aubl.		1	3	2	1	1						4	3	1									8	1,2	4	3	1			+
M	*Inga sessilis* D.C.				1	1	2	1	2	1				2	1	1	2							8	1,2		5	3			+
M	*Hirtella hebeclada* Moric.			3	1	1		2					3	2		1	1	2						7	1,0		3	4			+
M	*Marlierea silvatica* (Gardn.) Kiaer.	1	3	2		1							6	1										7	1,0	6	1				+
M	*Cabralea glaberrima* A. Juss.	1	1		1								5	1										6	0,9	6			+	+	
M	*Aspidosperma camporum* Mart.		1	1			1	2		1			2			1	2			1				6	0,9	2	3	1			
M	*Alchornea triplinervia* (Spreng.) Muell Arg.							1	1	4						1	1			1	1			6	0,9		4	2			+
M	*Matayba guianensis* Aubl.	1	1	1		1							3	1				2						4	0,6	3	1				+
M	*Brosimosps lactens* S. Moore.		2	1			1						2	2										4	0,6	3	1		+	+	
M	*Aspidosperma olivaceus* Muell. Arg.			1		1	1			1				2	1	1								4	0,6	1	2	1			
M	*Ocotea sp.* (Canela bicho)		2	1						1			3			1								4	0,6	3	1				+
M	*Amaiua guianensis* Aubl. var. *brasiliensis* Sch.	2	1	1									4											4	0,6	4			+	+	
M	INGA *affinis* DC.		1	2									3											3	0,4	3			+		
M	*Ocotea indecora?*	1	1	1									3											3	0,4	3					
M	*Seguieria Glaziovii* Brig.		1	2									[illegible]											3	0,4	3			+		
M	*Gomidesia Tijucensis* (Kiaer) Legr.		2						1				2			1								3	0,4	2	1				
M	*Buchenavia Kleinii* Excell.		1			1							1		1									2	0,3	1	1		+	+	
M	*Ocotea sp.* (Canela broto)		1		1								1	1										2	0,3	1	1		+		
M	*Andira anthelmintica* Benth.	1		1									2											2	0,3	2			+		
M	*Marlierea parviflora* Berg.		2										2											2	0,3	2			+		
M	*Pterocarpus violaceus* Vog.									1										1	1			2	0,3						
M	*Calycorectes Schottianus* Berg.						1		1		1				2									2	0,3		2	2			+
M	*Eugenia leptoclada* Berg.					1	1							1	1									2	0,3		2			+	
M	*Nectadra rigida* Nees.				1		1						1	1										2	0,3		2			+	
M	*Copaifera oblongifolia* Mart.		2										2											2	0,3	2			+	+	
M	*Virola oleifera* (Schott.) A. C. Sm.		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Ocotea* sp. (Canela pinho)			1									1											1	0,1	1			+		
M	*Ocotea* sp. (Canela pinho)			1									1											1	0,1	1			+		
M	*Trichilia* sp. (Guacá Maciele)						1								1									1	0,1		1			+	
M	*Cedrella fissilis* Vell.							1										1						1	0,1			1			+
M	*Xylopia brasiliensis* Spr.							1							1									1	0,1		1			+	
M	*Ocotea* sp. (Sassafraz do preto)								1									1						1	0,1			1			+
M	*Ocoeta pretiosa* (Nees) Mez.		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Ocotea* sp. (Canela garuva)		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Hieronima alchornioides* Fr. Allem				1									1										1	0,1	1				+	
M	*Platymiscium floribundum* Vog.		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Jacaranda puberula* Cham.		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Dalbergia brasiliensis* Vog.		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Cryptocaria moschata* Mart.									1										1				1	0,1			1			+
M	*Byrsorima ligustrifolis* Juss.							1						1										1	0,1		1			+	
M	*Guatteria neclecta* R. E. Fries.							1								1								1	0,1	1				+	

Quadro VI (continuação)

Formas biológicas	DADOS / ESPÉCIES	ALTURA EM METROS											CIRCUNFERÊNCIA EM CENTÍMETROS											Densidade	Abundância	VITALIDADE			BROMELIÁC.		
		0,00-1,99	2,00-3,99	4,00-5,99	6,00-7,99	8,00-9,99	10,00-11,99-	12,00-13,99	14,00-15,99	16,00-17,99	18,00-19,99	+ 20.00	0-19	20-39	40-59	60-79	80-99	100-119	120-139	140-159	160-179	180-199	+ 200			Jovens	Adultos	Velhos	Não	Poucos	Muitas
M	*Vantana contracta* Urb.		1										1											1	0,1	1			+		
Pmn	*Euterpe edulis* Mart.	18	9	4	2	3	13	7	2				29	21	8									58	8,7	27	22	9		+	
Pn	*Geonoma Schottiana* Mar. var. *genuina* Dr.	7											7											7	1,0			7	+		
Pn	*Bactris Lindmaniana* Dr.	4	1										5											5	0,7		4	1	+		
MN	*Ocotea teleiandra* (Meissn.) Mez.	2	37	9	1	1							47	3										50	7,5	39	9	2		+	
MN	*Ardisia catharinensis* Mez.	6	28	1									35											35	5,2	34	1			+	
MN	*Gomidesia spectabilis* (DC.) Berg.	1	21	6	3	1							29	2	1									32	4,8	22	9	1		+	
MN	*Rheedia Gardneriana* Tr. & Pl.	3	4	3	2								12											12	1,8	7	5			+	
MN	*Esembeckia grandiflora* Mart.		7	3	1								10	1										11	1,6	7	4			+	
MN	*Maytenus alaternoides* Reiss.		6	1	1	1	1						8	2										10	1,5	6	3	1		+	
MN	*Sorocea ilicifolia* Miq.	2	3	2									7											7	1,0	5	2			+	
MN	*Mouriria Chamissoniana* Cogn.		1	3	2								4	2										6	0,9	1	5			+	
MN	*Ouratea parviflora* (DC.) Baill.	2	3	1									6											6	0,9	5	1			+	
MN	*Marlierea racemosa* (Vell.) Kiaer.		4	2									6											6	0,9	4	2			+	
MN	*Myrcia pubiletala* Miq.		4			1							4	1										5	0,7	4	1			+	
MN	*Guarea verrunculosa* C. DC.	3	2										5											5	0,7	5			+		
MN	*Posoqueria latifolia* (Rudge) R. & P.		3				1						3	1										4	0,6	3	1			+	
MN	*Marlierea tomentosa* Camb.		1	2									3											3	0,4	1	2		+		
MN	*Heisteria Silvianii* Schwacke.		1	1		1							2	1										3	0,4	1	1	1		+	
MN	*Caseriaria decandra* Jacq.		2			1							2		1									3	0,4	2	1			+	
MN	*Casearia silvestris* Sw.					2			1						2		1							3	0,4		2	1		+	
MN	EUGENIA PSIDIFLORA Berg.		2	1									3											3	0,4	2	1			+	
MN	*Rapanea umbellata* (Mart.) Mez.		1	2									2	1										3	0,4	1	2			+	
MN	*Bathyra australis* Hook.	1				1	1						1		1	1								3	0,4	1	1	1		+	
MN	*Aparisthmium cordatum* (Jus.) Baill		1	1	1								1	1										2	0,3	1	1			+	
MN	*Actinostemon concolor* (Spr.) M. A.																														
MN	*Sebastiania argutidens* Pax. & K.		1										1											1	0,1	1			+		
	Hoffm.			1									1											1	0,1	1			+		
MN	*Trichilia tetrapetala* C. DC.			1										1										1	0,1		1		+		
MN	*Solanum acuminatum* R. & P.				1									1										1	0,1		1			+	
MN	*Miconia holosericea* (L.) Tr.				1								1											1	0,1	1				+	
MN	*Pauroma acutiflora* Tréc.		1										1											1	0,1	1			+		
Cmn	*Cyathea schauschim* Mart.			3	2								1	4										5	0,7			5		+	
Cn	*Alsophila phalerata* Mart.	5	7	7									3	16										19	2,8		12	7	+		
Cn	*Hemitelia setosa* Metten.	1	2	3										6										6	0,9		3	3		+	
N	*Psychotria suterella* Muell. Arg.	9	34	3									45	1										46	6,9	9	34	3	+		
N	*Rudgea jasminoides* Muell. Arg.	4	16	12									29	3										32	4,8	4	16	12	+		
N	*Mollinedia uleana* Perk. e *M. trichlora* Tul.	4	16	9	2								28	3										31	4,6	20	9	2		+	
N	*Piper Richardiaefolium* Kunth.	4	8										12											12	1,8	4	8		+		
N	*Faramea montividensis* Cham. & Schl.	1	4	4									9											9	1,3	1	4	4	+		
N	*Miconia racemifera* (DC.) Tr.		5										5											5	0,7		5		+		
N	*Piper Gaudichaudianum* Junth.			2									2											2	0,3			2	+		
	TOTAL	**101**	**309**	**130**	**36**	**25**	**30**	**18**	**12**	**9**	**1**		**506**	**102**	**31**	**9**	**8**	**7**	**1**	**5**	**2**			**671**	**98,3**	**350**	**236**	**85**	**33**	**40**	**12**

ZONAÇÃO "B"

Localizamos, mais ou menos, no meio da encosta sul do vale da Azambuja, de inclinação suave, a área de estudos de microclima intermediário, isto é, marcamos um quadrado com 32 metros de lado (1 024 m^2) subdividido em 64 outros de 16 m^2 cada um, situada entre a zonação mais úmida (talvegue do vale) e a mais sêca (alto da ondulação). Dos 135 elementos componentes da comunidade, constamos, em nosso quadrado de estudo, 87 espécies, sendo 51 macrofanerófitas (M.), 3 palma-fanerófitas (sendo 1 Pmn. e 2 Pn.), 25 mesofanerófitas (MN.), 3 ciatéa-pteridófitas (Cn.), 4 nanofanerófitas (N.) e 1 geófita (G.). Ocupando uma zonação intermediária é, lògicamente, esta associação bem mais heterogênea do que as outras, pois além das espécies próprias, aí ocorrem a maioria dos elementos existentes nas duas outras associações situadas nos extremos do vale ocupado pela comunidade. Levando-se em consideração as espécies que tenham características sociológicas indicadoras de uma seleção ao meio ambiente, temos 25 elementos com mais de 1% de abundância e 61 com menos, 22 com freqüências maiores que 10% e 63 menores, que imprimem à associação um "facies de heterogeneidade", talvez a zonação mais complexa de tôdas que estudamos na Formação pluvial do sul do Brasil.

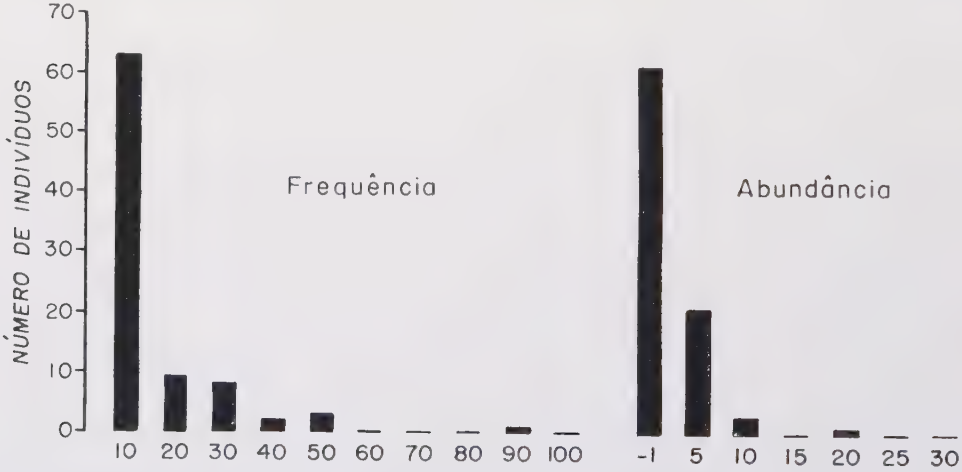


Gráfico 4 — Freqüência e abundância na comunidade da Azambuja — Zonação "B".

Encontramos, como dominantes do estrato arbóreo, as espécies *Euterpe edulis* e *Alchornea triplinervia*. A primeira, com onze indivíduos que, oscilando entre 9 e 11 metros de altura, tem fraca cobertura e delgados estipes, não caracterizando, assim, a associação. A segunda, com seis exemplares, cuja altura varia entre 9 e 20 metros, tem grande cobertura e grossos troncos, não só caracteriza externa como também internamente a associação. Não podemos considerar nenhuma outra espécie, aí existente, como subdominante, pois, dos 20 elementos que ultrapassam os 9 metros de altura, seis são presentes com 2 exemplares e quatorze com 1 indivíduo. Destas, além da dominante *Euterpe edulis*, constatamos seis outras com ciclo evolutivo completo, isto é, desde jovens até velhos, ou sejam: *Sloanea guianensis, Torrubia olfersiana, Tapirira guianensis, Crypto-*

carya moschata, Marlierea silvatica e *Brosimopsis lactecens*. As outras espécies, também, em plena vitalidade mas com pequenas abundâncias, densidades e freqüências dentro da associação, talvez, pelo fato de requererem maior área de ocupação (competição), compreendem: *Aspidosperma olivaceum, Heisteria Silvianii, Virola oleifera, Duguettia lanceolata, Nectandra rigida, Xylopia brasiliensis* e *Myrcia pubipetata*; e, finalmente, as que estão sendo substituídas, seja por diminuição da umidade local: *Alchornea triplinervia* (dominante), *Endlicheria paniculata* e *Aspidosperma camporum,* seja por pertencerem a outras associações de caráter mais pioneiro: *Eugenia leptoclada, Vernonia puberula* e *Pranus Sellowii*.

No estrato médio, a *Euterpe edulis,* presente com 20 indivíduos, domina visìvelmente sôbre todos os componentes da sinusia das arvoretas. Podemos considerar como subdominante a *Sloanea guianensis,* pois, embora presente apenas com sete exemplares, os outros elementos integrantes do estrato, em número de 28, são muito menos representados. Encontramos, além dos dominantes e das macrofanerófitas que ocorrem com o ciclo evolutivo completo, as espécies *Calyptranthes obscura* e *Cabralea glaberrima,* ambas começando a entrar na associação. Constatamos, também, com ótima vitalidade, as mesofanerófitas: *Actinostemon concolor, Rheedia Gardneriana, Trichilia tetrapetala, Gomidesia spectabilis* e *Aparisthmium cordatum* e as nanofanerófitas: *Faramea montividensis, Mollinedia uleana, M. triflora* e *Rudgea jasminoides*. Além das espécies citadas, as outras, que ocorrem no estrato, são bastante raras na associação, como por exemplo: *Inga fissilis* e *Matayba guianensis;* a primeira, provàvelmente, está sendo substituída, porque, pertencendo à associação mais pioneira, não encontrou meio propício, e a segunda, exigindo maior área de ocupação por indivíduo, não tem caráter gregário. As mesofanerófitas *Posoqueria latifolia, Eugenia psidiiflora* e *Psychotria longipes* têm exigências diferentes, isto é, as duas primeiras são próprias de zonações mais úmidas e a segunda a associações com caráter mais pioneiro.

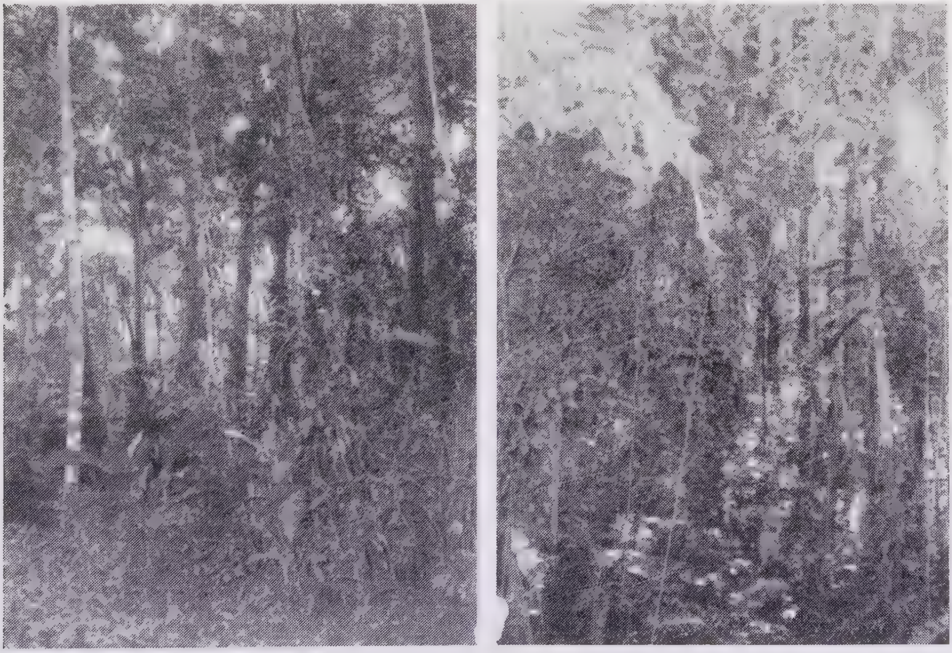


Fig. 17 — Vistas do interior da comunidade da Azambuja na zonação "B".

O estrato arbustivo é dominado pela *Euterpe edulis* associada à macrofanerófita *Sloanea guianensis*, a mesofanerófita *Ocotea teleiandra* e as nanofanerófitas *Faramea montividensis, Mollinedia uleana* e *M. triflora*. Constatamos, como subdominantes, as macrofanerófitas *Calyptranthes obscura* e *Torrubia olfersiana*, as mesofanerófitas *Rheedia Gardneriana, Ouratea parviflora, Marlierea racemosa* e *Soroce ilicifolia* e a nanofanerófita *Rudgea jasminoides*. Com exceção das nanofanerófitas que dependem do microclima formado pelas macro e mesofanerófitas, as espécies acima existem na zonação "A" com ótima vitalidade. Todos os outros elementos com ciclo evolutivo completo e mais as espécies recém-introduzidas na zonação, seja por povoamento das que fazem parte da associação mais sêca, ou por elementos de caráter mais mesófito, constituem, com as outras espécies, o complexo da Formação clímax. Como exemplo: as macrofanerófitas *Tapirira guianensis, Ocotea pretiosa*, etc., as mesofanerófitas *Aparisthmium cordatum, Miconia budlejioides*, etc. e a palma-fanerófita *Geonoma Schottiana* var. *palustris* que, tendo os seus ótimos nas associações úmidas do alto da encosta, nesta zonação intermediária, continuam a encontrar meio propício ao completo desenvolvimento de seus indivíduos. No outro caso encontramos: as macrofanerófitas *Ocotea indecora, Amaiua guianensis, Cariniana estrelensis, Ocotea pichurim, Buchenavia Kleinii, Ocotea minarum*, etc. e a ciatéa-pteridófita *Alsophila phalerata*.

Quadro VII

COMUNIDADE DA AZAMBUJA

Zonação "B"

LEVANTAMENTO DAS BROMELIÁCEAS (DISTRIBUIÇÃO VERTICAL) EM UM QUADRADO DE 1 024 M^2

DADOS ESPECIES	ALTURA em METROS						Total
	menos de 1	1 a 5	5 a 10	10 a 15	15 a 20	mais de 20	
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *vagans* L.B. Smith		16	37	1 033	391	129	1 606
Vriesia incurvata Gaud.		91	513	77	178	29	888
Vriesia Rodigasiana E. Morr.		10	31	312	489	21	863
Nidularium innocentii Lem. var. *Paxianum* (Mez) L.B.Smith	328	321	2	30	6		687
Vriesia carinata Wawra		81	102	64	26	13	286
Aechmea cylindrata Lindm.		6	17	56	84	16	179
Vriesia Jonghii (Libon ex Koch) E. Morr.		2	45	91	17		155
Aechmea nudicaulis (L.) Griseb. var. *cuspidata* Baker		12	30	103	9		154
Neoregelia laevis (Mez) L.B.Smith	6	14	14	114	3	3	154
Canistrum Lindenii (Regel) Mez		12	19	39	15		85
Tillandsia triticea Burchell ex Baker			6	37	4		47
Wittrockia superba Lindm.		3	4	13	3		23
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *Phelippocoburgii* Wawra				15			15
Vriesia gigantea Gaud.				6			6

O estrato herbáceo é dominado pela geófita *Galathea zebrina* do meio das quais emergem tôdas as plântulas das espécies fanerófitas presentes na associação.

Tendo verificado que os fatos vistos, para associação presente são semelhante aos que vimos constatando para as outras zonações, citaremos apenas as espécies mais importantes com hospedadores das bromeliáceas. Temos, assim, na área de estudo, 11 espécies de macrofanerófitas que hospedam mais de 82% das epífitas aí existentes, pois cêrca de 18% das bromeliáceas constatadas no quadrado — *Nidularium innocentii* var. *Paxianum, Vriesia incurvata* e *V. carinata* — estão prêsas aos galhos dos fanerófitos da sinúsia arbustiva. As macrofanerófitas que servem de suporte às epífitas são: *Alchornea triplinervia* (com seis exemplares cobertos por cêrca de 30% das bromeliáceas existentes na área estudada), *Aspidosperma olivaceum, Sloanea guianensis. Vernonia puberula* e *Aspidosperma camporum* (com dois indivíduos cada espécie, suportam mais de 30% das epífitas) e *Torrubia olfersiana, Cryptocarya moschata, Marlierea silvatica, Virola oleifera, Hirtella hebeclada* e *Duguettia lanceolata* (com 1 exemplar cada espécie, hospedando cêrca de 20% das epífitas da área levantada).

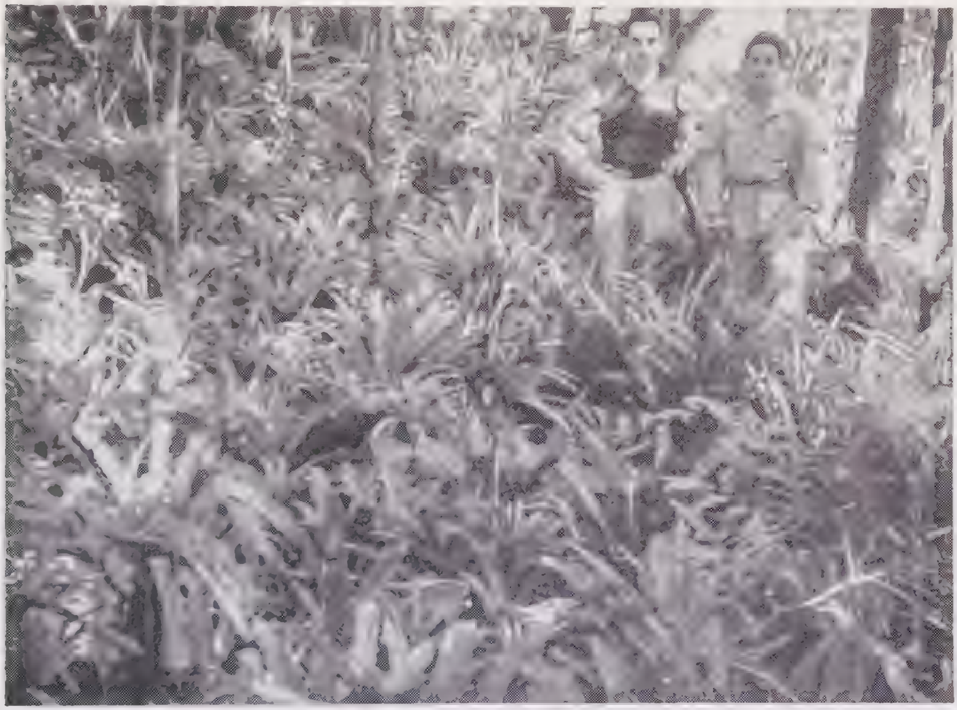


Fig. 18 — Tapête contínuo de *Nidularium innocentii* var. *Paxianum*.

ZONAÇÃO "C"

No alto da encosta norte, onde está situada a comunidade da Azambuja, instalamos a nossa área de estudos de 44 por 24 metros (1 056 m^2), subdividida em 66 parcelas de 16 metros quadrados cada.

Das 135 espécies componentes da comunidade, encontramos, em nosso retângulo, 64 elementos assim distribuidos: 33 macrofanerófitos (M.), 3 palma-fanerófitos (sendo 1 Pmn. e 2 Pn.), 24 mesofanerófitos (MN.), 1 ciatéa-pteridófito (Cn.) 2 nanofanerófitos (N.) e 1 geófito (G.).

Quadro VIII

COMUNIDADE DA AZAMBUJA (ZONAÇÃO "B")

Altura — Circunferência

(DENSIDADE — ABUNDÂNCIA — VITALIDADE)

Formas biológicas	DADOS ESPÉCIES	ALTURA EM METROS											CIRCUNFERÊNCIA EM CENTÍMETROS											Densidade	Abundância	VITALIDADE			BROMELIÁC.		
		0,00-1,99	2,00-3,99	4,00-5,99	6,00-7,99	8,00-9,99	10,00-11,99-	12,00-13,99	14,00 15,99	16,00-17,99	18,00-19,99	+ 20,00	0-19	20-39	40-59	60-79	80-99	100-119	120-139	140-159	160-179	180-199	+ 200			Jovens	Adultos	Velhos	Não	Poucos	Muitas
	Sloanea guianensis (Aubl.) Benth	3	27	7	2	2		1	1				31	8	3	1								43	6,1	30	11	2			+
M	*Calyptranthes obscura* (DC)		13	10									17	6										23	3,3	13	10			+	
M M	*Torrubia olfersiana* (Lk. et Otto) Standl. var. *nitida* (Heimer) Reitz		12	2	1	1	1						11	1			2							17	2,4	12	5			+	
	Brosimopsis lactecens Moore	1	3	2	3						1		6	2	1						1			10	1,4	4	5	1			+
M	*Tapirira guianensis* Aubl.		4	2	1	2							6	2		1								9	1,3	4	5			+	
M	*Ocotea indecora?*		7	1									8											8	1,1	7	1		+		
M	*Marliera silvatica* (Gardn). Kiaer		3	2	1	1	1						4	2	1		1							8	1,1	3	5			+	
M	*Cryptocarua moschata* Mart.		4	1	1					1			5	2										7	1,0	4	3			+	
M M	*Alchornea triplinervia* (Spreng.) Muell Arg.					1	1	1	1	1	1		2			1	2	1						6	0,8		2	4			+
	Cabralea glaberrima A. Juss.		2	3	1								4	2										6	0,8	2	[illegible]			+	
M	*Amaiua guianensis* Aubl. var. *brasiliensis* Schum.		4	1									5											5	0,7	4	1		+		
M	*Nectandra rigida* Nees		2	1					1				2	1		1								4	0,6	2	1	1			+
M	*Byrsonima ligustrifolia* Juss.		1	2									1	2										3	0,4	1	2			+	
M	*Xylopia brasiliensis* Spr.			2					1				2			1								3	0,4		2	1			+
M	*Ocotea* sp. (Canela bicho)		2	1									2	1										3	0,4	2	1		+		
M	*Aspidosperma olivaceus* Muell. Arg.		1						1			1	1				1	1						3	0,4	1	1	1			+
M	*Hirtella hebeclada* Moric.		1		1	1							1	1	1									3	0,4	1	2			+	
M	*Virola oleifera* (Schott.) A. C. Sm.		2					1					2										1	3	0,4	2		1			+
M	*Duguetia lanceolata* St. Hil.		2						1				2					1						3	0,4	2		1			+
M	*Copaifera oblongifolia* Mart.		2	1									3											3	0,4	2	1		+		
M	*Endlicheria paniculata* (Spr.) Macbride		1				1	1					1		2									3	0,4	1	2			+	
M	*Gomidesia tijucensis* (Kiaer) Legr.		1	1									2											2	0,3	1	1		+		
M	*Matayba guianensis* Aubl.		1	1									2											2	0,3	1	1		+		
M	*Aspidosperma camporum* Mart.						1	1								2								2	0,3		2			+	
M	*Cariniana estrelensis* (Raddi) O. Ktze.		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Nactandra pichurim?*		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Vernonia puberula* Less.								1								1							1	0,1			1			+
M	*Trichilia* sp. (Guacá maciele)		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Ocotea pretiosa?*		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Buchenavia Kleinii* Excell.			1									1											1	0,1		1			+	
M	*Eugenia ceraciflora* Miq.		1									1												1	0,1	1			+		
M	*Ocotea minarum* Mart. var. *canencers* (Meissn) Mez		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Nectandra oppositifoliap* Ness.							1									1							1	0,1			1			+
M	*Inga affinis* DC.		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Camponesia catharinae* Legr.		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Occtea* sp. (Canela pinho)			1									1											1	0,1		1		+		
M	*Hieronima alchormioides* Fr.			1										1										1	0,1		1		+	+	
M	*Pterocarpus violaceus* Vog.													1										1	0,1		1		+		
M	*Ocotea* sp. (Canela broto)			1									1											1	0,1		1		+		
M	*Prunus Sellowii* Koehne							1									1							1	0,1			1		+	
M	*Eugenia leptoclada* Berg.						1								1									1	0,1		1			+	
M	*Platimiscium floribundum* Vog.		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Ilex theezans* Mart.		1										1											1	0,1	1			+		

Quadro VIII (continuação)

Formas bioló-gicas	DADOS ESPÉCIES	ALTURA EM METROS											CIRCUNFERÊNCIA EM CENTÍMETROS											Densidade	Abundância	VITALIDADE			BROMELIÁC		
		0,00-1,99	2,00-3.99	4,00-5,99	6,00-7.99	8,00-9,00	10,00-11,00-	12,00-13,99	14,00-15.99	16,00-17,99	18,00-19.00	+ 20.00	0-19	20-39	40-59	60-79	80-99	100-119	120-139	140-159	160-179	180-199	+ 200			Jovens	Adultos	Velhos	Não	Poucos	Muitas
M	*Spirotheca Rivieri* (Done.) Ulbr.							1											1					1	0,1			1	+		
M	*Jacaranda puberula* Cham.		1										1											1	0,1	1			+		
Pmn	*Euterpe edulis* Mart.	62	39	8	8	11	8						96	31	9									136	19,3	101	16	19		+	
Pn	*Geonoma Schottiana* Mart. var. *palustris* (Warm.) Dr.	14											14											14	2,0	6	5	3	+		
Pn	*Bactris Lindmaniana* Dr.	1	2										3											3	0,4		1	2		+	
MN	*Ocotea teleiandra* (Meissn) Mez		29	7	2								35	1	2									38	5,4		29	9		+	
MN	*Actinostemon concolor* (Spr.) M. A.		22	5									25	2										27	3,8	12	10	5		+	
MN	*Rheedia Gardneriana* Tr. Á Pl.		1	15	5								19	2										21	3,0	1	15	5		+	
MN	*Ouratea parviflora* (DC.) Baill.	2	18										20											20	2,8	2	18			+	
MN	*Marlierea racemosa* (Vel.) Kiaer	1	14	2									17											17	2,4	1	14	2		+	
MN	*Gomidesia spectabilis* (DC.) Brig.	1	7	7									11	4										15	2,1	1	7	7		+	
MN	*Sorocea ilicifolia* Miq.	1	13	1									15											15	2,1	1	13	1		+	
MN	*Trichilia tetrapetala* C. DC.	1	7	4									10	2										12	1,7	1	7	4		+	
MN	*Maytenus alaternoides* Reiss.	1	9	1									11											11	1,6	1	9	1		+	
MN	*Ardisia catharinensis* Mez	2	7	1									10											10	1,4	2	7	1		+	
MN	*Aparisthmium cordatum* (Juss.) Bail		3	2	3								8											8	1,1	3	2	3		+	
MN	*Marlierea tomentosa* Camb.		2	4									5	1										6	0,8	2	4			+	
MN	*Bathysa australis* Hook.				3	1								1	2	1								4	0,6			4		+	
MN	*Eugenia psidiflora* Berg.		1	2	1								2	1	1									4	0,6		1	3		+	
MN	*Mouriria chamissoniana* Cogn.		3	1									4											4	0,6		3	1		+	
MN	*Myrcia pubitala* Miq.		2			1							2			1								3	0,4		2	1		+	
MN	*Heisteria Silwanii* Schwacke			1	1	1							2			1								3	0,4		1	2		+	
MN	*Pausandra Morisiana* (Casar) Radlk		1	2									2	1										3	0,4	1	2			+	
MN	*Rapanea umbellata* (Mart.) Mez		2		1								2	1										3	0.4	2	1			+	
MN	*Miconia budlejoides* Tr.	1	1										2											2	0,3	2			+		
MN	*Guatteria neclecta* R. E. Fries				1	1									2									2	0,3		2			+	
MN	*Cestrum amictum* Schl. var. *lonfiflorum* Seudt.		2										2											2	0,3		2			+	
MN	*Guarea verrunculosa* C. DC.		1										1											1	0,1		1		+		
MN	*Casearia silvestris* Sw.		1									1												1	0,1		1		+		
MN	*Psychotria longipes* Muell. Arg.					1									1									1	0,1			1		+	
MN	*Miconia holosericea* (L.) Tr.		1										1											1	0,1		1		+		
MN	*Inga sessilis* C. DC.					1										1								1	0,1			1		+	
MN	*Psychotria alba* R. Á P.			1									1											1	0,1		1		+		
MN	*Posoqueria latifolia* (Rudge) A P R.					1										1								1	0,1			1		+	
Cn	*Alsophila corcovadensie* Fée	2	1											3										3	0,4		2	1		+	
Cn	*Alsophila phalerta* Mart.	1	1											2										2	0,3		1	1		+	
Cn	*Hemitelia setosa* Metten.	1											1											1	0,1		1			+	
N	*Mollinedia uleana* Perk. *M. triflora* (Dpr.) T.	14	18	4									33	3										36	5,1	14	18	4		+	
N	*Faramea montividensis* (DC.) Cham. Á Schl.	10	17	7									31	3										34	4,8	10	17	4		+	
N	*Rudgea jasminoides* Muell. Arg.	4	12	5									19	2										21	3,0	4	12	5		+	
N	*Psychotria suterella* Muell Arg.	11	3										14											14	2,0	11	3		+		
N	*Piper Richardiaefolium* Kunth.	2											2											2	0,3	2			+		
N	*Piper Gaudichaudianum* Kundth.		2										2											2	0,3		2		+		
	TOTAL	136	348	124	37	26	14	8	7	2	2	1	556	96	26	11	8	4	2	0	1	0	1	705	98,4	290	365	110	30	46	10

A associação aí instalada ocupa um terreno caracterizado pelo solo raso onde, não raras vêzes, aflora o conglomerado do pré-permeano, assim como grandes fragmentos de quartzito do Algonquiano.

Zonação possuidora de condições edáficas especiais e com microclima bem diferente (recebendo a radiação solar com menor inclinação) é coberta por vegetação bem demarcada, onde algumas espécies selecionaram os seus ótimos. Outra característica, ligada ao solo, é a grande e profunda camada (atingindo até 1 metro) de fôlhas mumificadas, junto com as raízes superficiais, meio de fixação ótimo para as espécies epífitas, formando tapêtes contínuos de *Nidularium innocentii* var. *Paxianum* entremeadas por indivíduos de *Canistrum Lindenii* e *Vriesia incurvata*. *A parte mais profunda do colchão de fôlhas é possível que esteja sofrendo uma fermentação do tipo da formação de turfa. Daí, talvez, a explicação para a grande semelhança existente entre o tapête de bromeliáceas desta zonação* (associação) *com o encontrado nas matas que cobrem os solos quaternários recentes da Restinga.*

Do número relativamente pequeno de espécies que habitam esta associação, apenas 23 têm freqüências sociológicas maiores que 10% e 25 têm abundâncias acima de 1%; vemos, contudo, que das zonações da comunidade Azambuja, é a que se apresenta com maior homogeneidade.

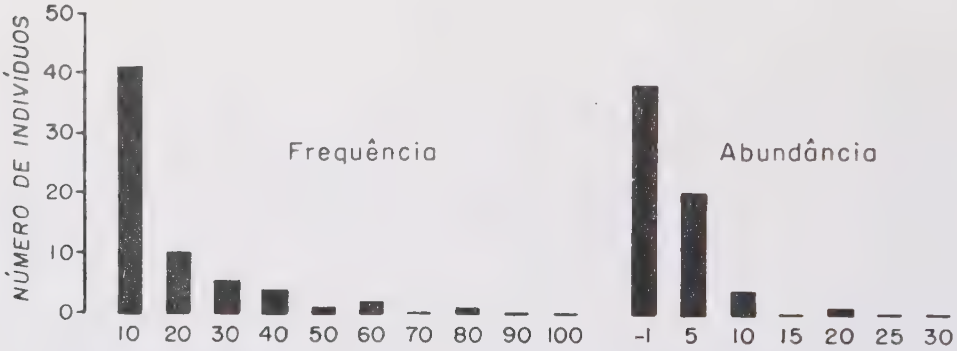


Gráfico 5 — Freqüência e abundância na zonação "C" da comunidade da Azambuja.

Encontramos dominando, no estrato arbóreo, as espécies *Ocotea aciphylla* e *Sloanea guianensis*; a primeira domina sòmente neste tipo de zonação e, raramente, é presente em outras associações, enquanto a segunda, com seu caráter de indiferença edáfica e microclimática, domina na quase totalidade das comunidades da Formação. Constatamos, como subdominantes, as espécies *Alchornea triplinervia, Tapirira guianensis* e *Byrsonima ligustrifolia*; a primeira, representada por indivíduos adultos e velhos, é presente em tôdas as associações da região, não só caracterizam as comunidades pelo seu porte e cobertura, como também é indicadora de um passado mais úmido que existiu na região, pois, como temos visto, as plântulas desta espécie, no atual complexo clima-solo, sòmente se desenvolvem nas zonações encharcadas. A segunda espécie, presente em tôdas as comunidades do tipo Azambuja, encontra nesta Zonação o seu ótimo; finalmente, a terceira que, encontrada indiferentemente na maioria das associações, têm preferências bastante acentuadas pelas zonações dêste tipo. O que vimos, porém, é que estas duas últimas espécies são próprias das comunidades florestais existentes nas proximidades da costa marítima. A verdade ecológica, no entanto, é que ela sòmente dominam nas associações situadas em zonações semelhantes a que estamos descrevendo, embora, na orla marítima, as suas abundâncias possuam valores bem mais elevados.

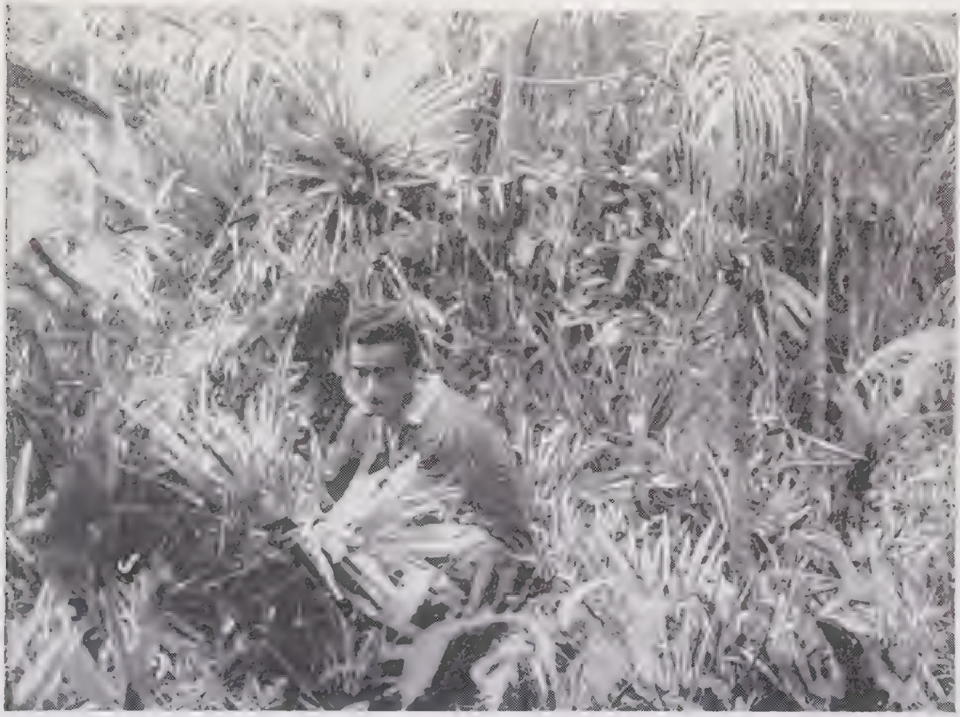


Fig. 19 — A *Geonoma Schottiana* var. *palustris*, emergindo do tapête de *Nidularium innocentii* var. *Paxianum*, em Brusque.

Como companheiras, com algum valor associativo, podemos citar as espécies *Vantana contracta, Heisteria Silvianii, Endlicheria paniculata, Xylopia brasiliensis* e *Euterpe edulis.* Como elementos raros, citaremos: *Calyptranthes obscura, Copaifera oblongifolia, Pithecolobium Langsdorffii,* etc.

O estrato médio é visivelmente dominado pela *Euterpe edulis* que, *com seu caráter de indiferença às pequenas variações microclimáticas das associações, é, juntamente com a* Sloanea guianensis, *a expressão do clima geral que atualmente impera na região* "bromélia-malária", *substituindo a* Alchornea triplinervia *que, tudo indica, é a expressão do clima geral que dominou, em um passado não muito remoto, na região.* Como subdominantes do estrato das arvoretas temos: a macrofanerófita *Ocotea aciphylla* e a mesofanerófita *Aparisthmium cordatum*; a primeira, como vimos acima, domina no estrato arbóreo e é exclusiva desta zonação e a segunda, presente em tôdas as associações da comunidade da Azambuja, é seletiva nesta situação topográfica. Com características sociológicas basbante significativas, mas com pequenas abundâncias, temos: as macrofanerófitas *Actinostemon concolor, Rheedia Gardneriana* e *Rapanea ferruginea* e, finalmente, as nanofanerófitas *Mollinedia uleana* e *M. triflora*. A espécie *Rapanea ferruginea*, em associações puras, cobre grandes extensões das encostas que foram devastadas pelo fogo, usado geralmente como principal instrumento de limpeza agrícola na região; provàvelmente, é nesta zonação da *prisera* que tem a sua origem de dispersão. Nos municípios de Joinvile, São Francisco e outros, encontramos a *Tibouchina pulchra* que é própria das associações primárias situadas nas encostas da serra do Mar, exercendo papel ecológico idêntico ao exercido pela *Rapanea ferruginea* em Brusque, Blumenau, Itajaí e outras cidades.

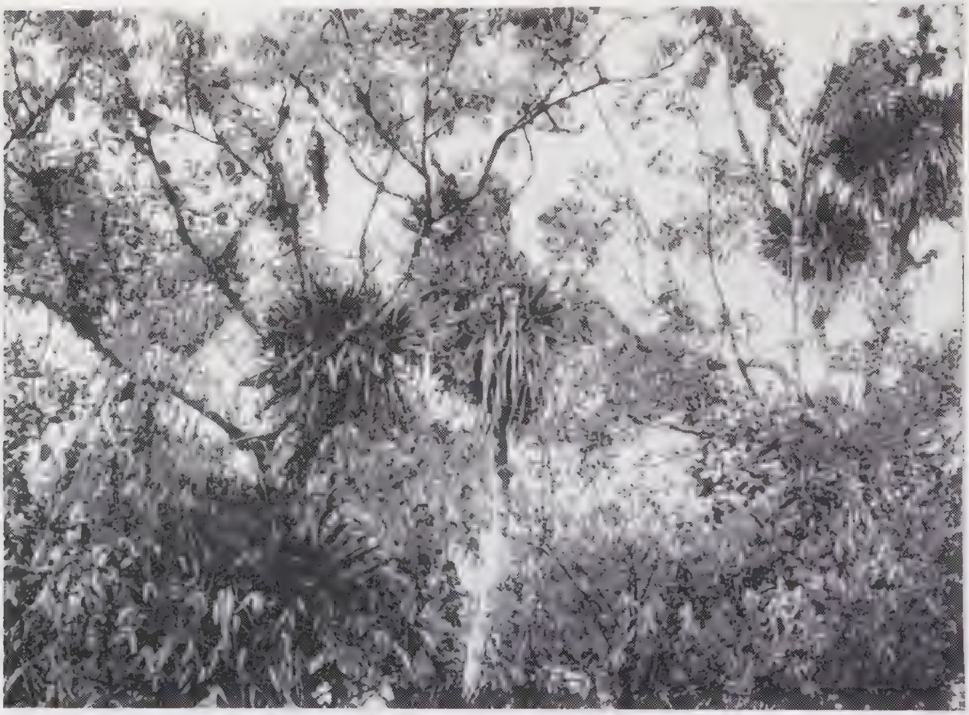


Fig. 20 — A espécie *Tapirira guianensis*, hospedando grandes grupos de *Vriesia Jonghii*.

Das espécies raras encontradas no estrato, podemos citar a macrofanerófita *Ilex theezans* e a mesofanerófita *Coccoloba rubra* que, não sendo exclusivas a êste tipo de zonação em tôda a Formação, revelam-se próprias à associação em Brusque. Podemos citar, além destas espécies, as seguintes: as macrofanerófitas *Myrcia pubipetala, Andira anthelminthica, Hirtella hebeclada* e a mesofanerófita *Inga Sellowii*.

No estrato arbustivo, a palma-fanerófita *Geonoma Schottiana* var. *palustris* domina com exclusividade, pois as subdominantes reunidas, talvez, não chegam a totalizar o seu enorme número de indivíduos. A espécie, além disto, é seletiva da zonação, porque a variedade *genuina* é própria das associações onde o solo é úmido mas sem substrato turfoso. Fato idêntico vimos observando desde a serra dos Órgãos, em Tinguá e Teresópolis, no estado do Rio de Janeiro, onde a espécie domina em situação topográfica semelhante.

Como subdominante do estrato, encontramos as macrofanerófitas *Guatteria neclecta, Cabralea glaberrima* e *Ocotea aciphylla,* as mesofanerófitas *Miconia tentaculifera, Aparisthmium cordatum, Rapanea ferruginea, Miconia racemifera, Esenbeckia grandiflora* e *Actinostemon concolor,* as nanosfanerófitas *Mollinedia uleana* e *M. triflora* e a palma-fanerófita *Euterpe edulis*. Como espécies raras, sem valores associativos elevados, mas com características de seleção ao meio, temos: as macrofanerófitas *Protium heptaphyllum, Didymopanax angustissimum* e as mesofanerófitas *Eugenia ceraciflora* e *Myrcia gracilis*. Como espécies companheiras, demonstrando sua indiferença às pequenas variações do meio, encontramos: *Matayba guianensis, Eugenia leptoclada* (M.), *Ouratea parviflora* (N) e *Miconia holosericea, Gomidesia spectabilis* (MN.), etc.

O estrato herbáceo, como vimos, é constituído por um tapête de bromeliáceas onde a *Nidularium innocentii* var. *Paxianum* domina quase que exclusivamente.

Quadro IX

COMUNIDADE DA AZAMBUJA

Zonação "C"

LEVANTAMENTO DAS BROMELIÁCEAS (DISTRIBUIÇÃO VERTICAL)
EM UM RETÂNGULO DE 1 056 M²

DADOS / ESPÉCIES	ALTURA em METROS						Total
	menos de 1	1 a 5	5 a 10	10 a 15	15 a 20	mais de 20	
Nidularium innocentii Lem. var. *Paxianum* (Mez) L.B.Smith	2 865	36					2 901
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *vagans* L. B. Smith.......		33	253	969	327		1 582
Vriesia Rodigasiana E. Morr..............................	7	3	185	502	554	57	1 308
Vriesia flammea L.B.Smith..............................	2	58	128	394	158	4	744
Vriesia carinata Wawra..................................	54	138	158	212	96	33	691
Vriesia Jonghii (Libon ex Koch) E. Morr....................		25	79	94	24	2	224
Aechmea cylindrata Lindm..................................		153	14				167
Aechmea nudicaulis (L.) Griseb. var. *cuspidata* Baker..........		18	34	31	9		92
Canistrum Lindenii (Regel) Mez...........................	66	4	9	10			89
Neoregelia laevis (Mez) L.B.Smith.........................	13	8	19	15	6		61
Vriesia incurvata Gaud....................................	6	9	18	8			41
Tillandsia triticea Burchell ex Baker........................			2	37	1		40
Vriesia Pheloppocoburgii Wawra var. *Phelippocoburgii* Wawra..			6	25	3		34
Wittrochia superba Lindm..................................			4	6	1		11
Vriesia gigantea Gaud.....................................			1	7	1		9

Observamos que, quanto aos hospedeiros, as árvores situadas nesta zonação suportam grande número de indivíduos das espécies epífitas. Encontramos, outrossim, nesta zonação, com exceção, é claro, das associações situadas na orla marítima, quantitativamente, por unidade de área, o maior número de bromeliáceas. Constatamos, na área de estudo, 11 macrofanerófitas e 2 mesofanerófitas, hospedando cêrca de 40% das bromeliáceas, pois os outros 60% situavam-se a baixa altura.

Quadro X —

COMUNIDADE DA AZAMBUJA (ZONAÇÃO "C")

Altura — Circunferência

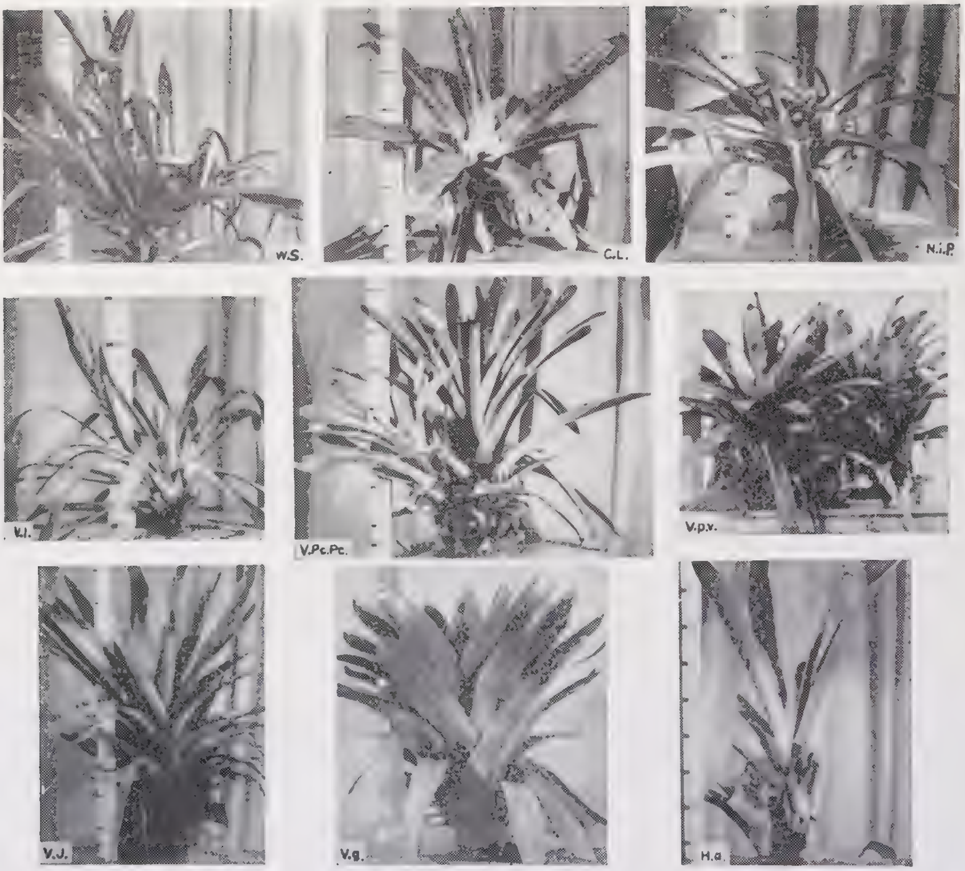
(DENSIDADE — ABUNDÂNCIA — VITALIDADE)

Formas biológicas	DADOS	ALTURA EM METROS											CIRCUNFERÊNCIA EM CENTÍMETROS											Densidade	Abundância	VITALIDADE			BROMELIÁC.		
	ESPÉCIES	0,00-1,99	2,00-3,99	4,00-5,99	6,00-7,99	8,00-9,99	10,00-11,99	12,00-13,99	14,00-15,99	16,00-17,99	18,00-19,99	+ 20,00	0-19	20-39	40-59	60-79	80-99	100-119	120-139	140-159	160-179	180-199	+ 200			Jovens	Adultos	Velhos	Não	Poucos	Muitas
M	*Ocotea aciphylla* (Nees) Mez	4	12	6	4	5	5	5	2				23	11	4	2	1	1	1					43	6,1	16	20	7			+
M	*Guatteria neclecta* R. E. Fries	1	9	12	4	2	1						17	7	5									29	4,1	10	19				+
M	*Ocoeta pretiosa?*	2	6	7	4	1	1	1					14	2	2	1	1	1	1					22	3,1	8	13	1			+
M	*Sloanea guianensis* (Aubl.) Benth.	2	1	1	1	4	5	5					6	5	1	5	1	1						19	2,7	3	11	5			+
M	*Tapirira guianensis* Aubl.	1	2	2	2	3	3	3	1				6	1	4	1	1	1	1	1	1			17	2,4	3	10	4			+
M	*Vantana contracta* Urb.	1	2	4	2	3	4						7	2	4		2		1					16	2,3	3	13			+	
M	*Heisteria Silvianii* Schwacke	1	2	2	2	2	3						4	4	2	2								12	1,7	3	9				+
M	*Amaiua guianensis* Aubl. var. *brasiliensis* Schum.	1	3	2	4		1						6	3		2								11	1,6	4	7				+
M	*Cabralea glaberrima* A. Juss.	1	8										9											9	1,3	9			+		
M	*Tabebuia chripothycha* (Mart.) Standl.		4	2	1				1				7				1							8	1,1	4	3	1		+	
M	*Ocotea* sp. (Canela parda)	1	3	2		1	1						6	2										8	1,1	4	4		+		
M	*Alchornea triplinervia* (Spreng) Muell. Arg.							4	2	1 1					1	1		1	2		2			7	1,0			7			+
M	*Endlicheria paniculata* (Spr.) Macbride		1	2		1	3						3	3	1									7	1,0	1	6		+		
M	*Xylopia brasiliensis* Spr.	1	2				1	1	1				3	1	1	1								6	0,8	3	1	2			+
M	*Gomidesia tijucensis* (Kiaer) Legr.			1	3		1						1	3	1									5	0,7		5			+	
M	*Matayba guianensis* Aubl.		2	2									4											4	0,6	2	2		+		
M	*Calyptranthes obscura* DC.			1	1		1						1	1	1									3	0,4		3			+	
M	*Copaifera oblongifolia* Mart.		2				1						2		1									3	0,4	2	1			+	
M	*Podocarpus Selowii* Kl.				1	1	1							2	1									3	0,4		3			+	
M	*Hirtella hebeclada* Moric.					1	2								2	1								3	0,4		3				+
M	*Ocotea* sp. (Canela broto)		1	1			1						2			1								3	0,4	1	2				+
M	*Didypomanax angustissimum* E. March.		1					1					1		1									2	0,3	1	1		+		
M	*Ocotea minarum* Mart. var. *canescens* (Meisns.) Mez						1	1						2										2	0,2		1	1		+	
M	*Pithecolobium Langsdorffii* Benth.	1							1				1			1								2	0,3	1		1		+	
M	*Andira anthelmintica* Benth.		1		1								1	1										2	0,3	1	1		+		
M	*Calycorectes Schottianus* Berg.						1								1									1	0,1		1			+	
M	*Protium heptaphyllum* (Aubl.) March.			1									1											1	0,1	1			+		
M	*Illex theezans* Mart.				1								1											1	0,1		1		+		
M	*Nectandea pichurim?*		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Ocotea* sp. (Canela pinho)			1														1						1	0,1		1		+		
M	*Eugenia leptoclada* Berg.		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Eugenia ceraflora* Miq.		1										1											1	0,1	1			+		
M	*Ocotea indecora?*		1										1											1	0,1	1			+		
Pmn	*Euterpe edulis* Mart.	15	10	10	13	10	3						30	31										61	8,7	25	23	13		+	
Pn	*Geonoma Schottiana* Mart. var. *palustris* (Warm.) Dr.	112	11										123											123	17,8		112	11		+	

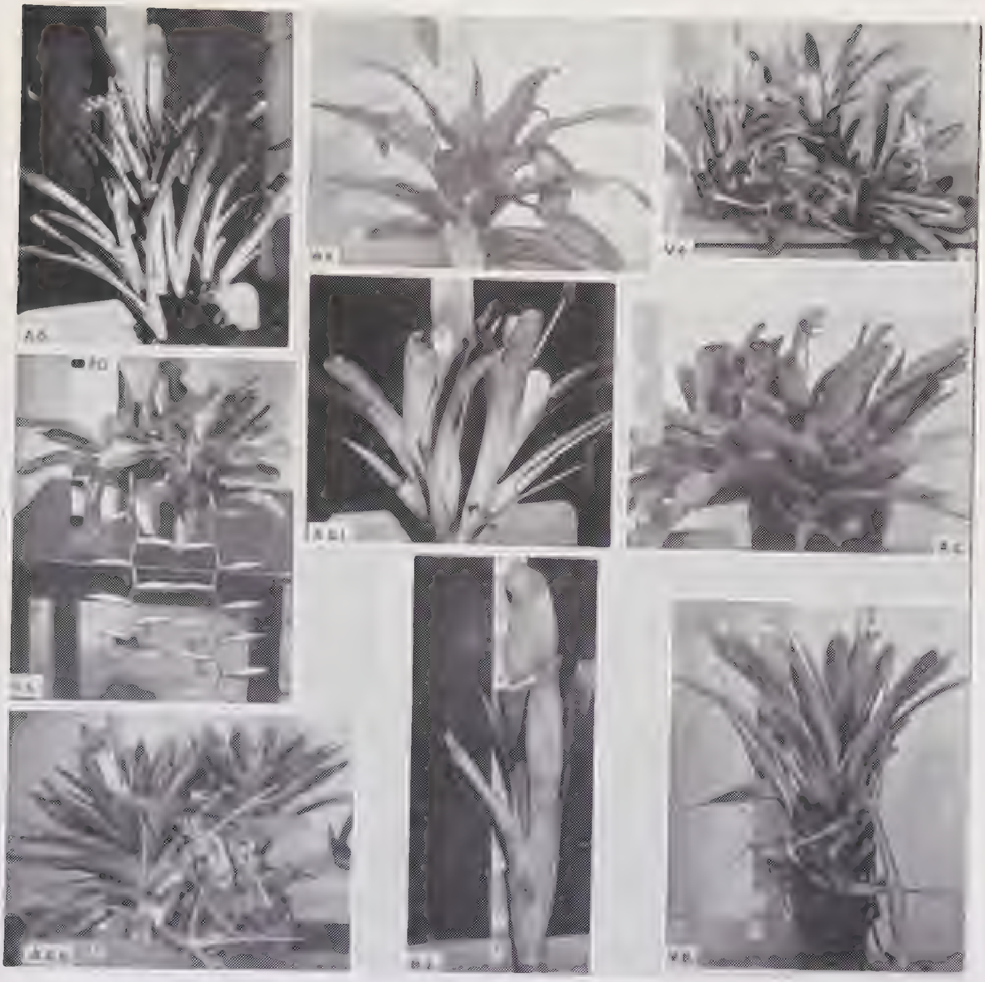
Quadro X (continuação)

Formas biológicas	DADOS ESPÉCIES	ALTURA EM METROS											CIRCUNFERÊNCIA EM CENTÍMETROS											Densidade	Abundância	VITALIDADE			BROMELIÁC.		
		0,00-1,99	2,00-3,99	4,00-5,99	6,00-7,99	8,00-9,99	10,00-11,99	12,00-13,99	14,00-15,99	16,00-17,99	18,00-19,99	+ 20,00	0-19	20-39	40-59	60-79	80-99	100-119	120-139	140-159	160-179	180-199	+ 200			Jovens	Adultos	Velhos	Não	Poucos	Muitas
Pn	*Geonoma Schottiana* Mart. var. *genuina* Dr.	1											1											1	0,1		1		+		
MN	*Aparisthmium cordatum* (Juss.) Baill.	1	20	8	4	4	1						23	11	4									38	5,4	21	16	1	+		
MN	*Miconia tentaculifera* Naud.	1	24	7	2								31	3										34	4,8	25	9		+		
MN	*Rapanea ferruginea* (R. & P.) Mez	2	12	10	3								22	5										27	3,8	14	13		+		
MN	*Miconia racemifera* (DC.) Tr.	3	15	2									20											20	2,8	18	2		+		
MN	*Byrsonima ligustrifolia* Juss.	4	1	2	3		5		1				10	1	4		1							16	2,3	5	5	6			+
MN	*Actinostemon concolor* (Spr.) M. A.	2	8	3	3								12	4										16	2,3	10	6		+		
MN	*Esenbeckia grandiflora* Mart.	2	10	2	1								13	2										15	2,1	12	3		+		
MN	*Rheedia Gardneriana* Tr. & Pl.		2	3	4								7	2										9	1,3	2	7		+		
MN	*Maytenus alanternoides* Reiss.	1	3	1	1		1						5	2										7	1,0	4	2	1	+		
MN	*Miconia elaeodendron* (DC.) Naud.	2	4										6											6	0,8	6			+		
MN	*Eugenia psidiflora* Berg.			1	4		1						3	2	1									6	0,8		5	1			+
MN	*Marlierea racemosa* (Vell.) Kiaer.	1	3	1									5											5	0,7	4	1		+		
MN	*Ouratea parviflora* (DC.) Baill.	2	1										3											3	0,4	3			+		
MN	*Rapanea umbellata* (Mart.) Mez		3										3											3	0,4	3			+		
MN	*Psychotria alba* R. A P.	1		2									3											3	0,4	1	2		+		
MN	*Miconia holosericea* (L.) Tr.	1	2										3											3	0,4	3			+		
MN	*Myrcia gracilis* Berg.		2										2											2	0,3	2			+		
MN	*Inga Sellowiana* Benth.					1	1							2										2	0,3		1	1		+	
MN	*Gomidesia spectabilis* (DC.) Berg.	1		1									2											2	0,3	1	1		+		
MN	*Cococloba rubra* L. B. Smith		1			1							1			1								2	0,3	1	1		+		
MN	*Licania* sp. (Catuteiro branco)				1								1											1	0,1		1		+		
MN	*Mouriria chamissoniana* Cogn.		1										1											1	0,1	1			+		
MN	*Myrcia pubipetala* Miq.				1									1										1	0,1		1		+		
MN	*Psychotria longipes* Muell. Arg.			1									1											1	0,1		1		+		
Cn	*Alsophila corcovadensis* Fée	1		1										2										2	0,3	1	1		+		
N	*Mollinedia uleana* Perk. M. *triflora* (Spr.) Tul.	4	16	17	5								32	10										42	6,0	4	16	22	+		
N	*Psychotria suterella* Muell. Arg.	1											1											1	0,1	1			+		
	TOTAL	174	216	121	76	40	49	22	8	1			495	128	42	19	8	5	6	1	3			707	99,9	250	372	85	37	13	13

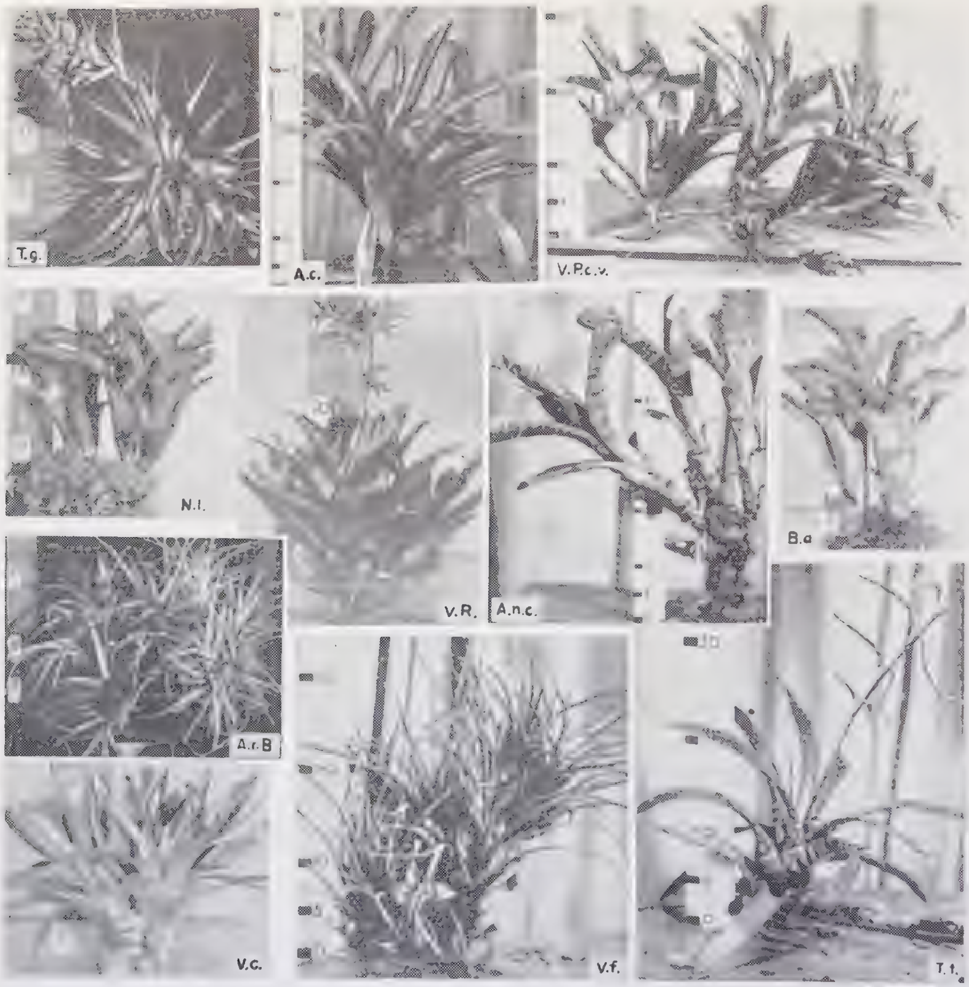
ESTAMPA 1



W.s. (*Wittrockia superba* Lindm.), *C.L.* (*Canistrum Lindenii* (Regel) Mez), *N.i.P.* (*Nidularium innocentii* Lem. var. *Paxianum* (Mez) L.B. Smith), *V.i.* (*Vriesia incurvata* Gaul.), *V.Pc.Pc.* (*Vriesia Phelippocoburgii* Wawra var. *Phelippocoburgii* Wawra), *V.p.v.* (*Vriesia platynema* Gaud. var. *variegata* (Guillon) Reitz), *V.J.* (*Vriesia Jonghii* (Libon ex C.Koch) E. Morr.), *V.g.* (*Vriesia gigantea* Gaud.) e *H.a.* (*Hohenbergia augusta* (Vell.) Mez).



A.b. (*Aechmea blumenavii* Retz.), *W.Sm.* (*Wittrockia Smithii* Reitz), *V.e.* (*Vriesia erythrodactylon* E.Morr. ex Mez), *V.s.* (*Vriesia scalaris* E. Morr.), *A.bl.* (*Aechmea calyculata* (E.Morr.) Baker), *A.c.* (*Aechmea caudata* Lindm.), *A.o.o.* (*Aechmea ornata* (Gaud.) Baker var. *ornata* Baker), *B.z.* (*Billbergia zebrina* (Herb.) Lindl.) e *V.b.* (*Vriesia brusquensis* Reitz).



T.g. (*Tillandsia geminiflora* Brongn.), *A.c.* (*Aechmea cylindrata* Lindm.), *V.Pc.* v. (*Vriesia Phelippocoburgii* Wawra var. *vagans* L.B. Smith), *N.l.* (*Neoregelia laevis* (Mez) L.B. Smth), *V.R.* (*Vriesia Rodigasiana* E.Morr.), *An.c.* (*Aechmea nudicaulis* (L.) Griseb. var. *cuspidata* Baker), *B.a.* (*Billbergia amoena* Lindl.), *A.r.B.* (*Aechmea recurvata* (Kl.) var. *Benrathii* (Mez) Reitz), *V.c.* (*Vriesia carinata* Wawra), *V.f.* (*Vriesia flammea* L. B. Smith) e *T.t.* (*Tillandsia triticea* Burchell ex Backer).

LISTA DAS ESPÉCIES

1) ANACARDIACEAE
Determinada por E. Asplund.
Tapirira guianensis Aubl.
N. vulgar: Cupiuva — Floresce em novembro.

2) ANONACEAE
Determinada por R. E. Fries.
Duguetia lanceolata St. Hil.
N. vulgar: Pindabuna — Floresce em novembro.
Guatteria neclecta R. E. Fries
N. vulgar: Curtiça — Floresce em março.
Xylopia brasiliensis Spr.
N. vulgar: Pindaíba — Floresce em janeiro.

3) APOCYNACEAE
Determinada por F. Markgraf.
Aspisdosperma camporum Muell. Arg.
N. vulgar: Peroba: — Floresce em janeiro.
Aspidosperma olivaceum Mull. Arg.
N. vulgar: Peroba — Floresce em janeiro.

4) AQUIFOLIACEAE
Determinada por L. B. Smith
Ilex theezans Mart.
N. vulgar: Carvalho branco — Floresce em janeiro

5) ARALIACEAE
Determinada por L. B. Smith
Didymopanax angustissimum E. March.
N. vulgar: Pau-mandioca — Floresce em novembro.

6) BIGNONIACEAE
Determinada por N. Y. Sandwith
Jacaranda puberula Cham.
Nome vulgar: Caroba — Floresce em outubro
Tabebuia chrysotricha (Mart.) Standl.
N. vulgar: Ipê do morro — Floresce em novembro
Tabebuia umbellata (Sond.) Sandwith
N. vulgar: Ipê da várzea — Floresce em outubro

7) BOMBACACEAE
Determinada por L. B. Smith
Spirotheca Rivieri (Dcne.) Ulbr.
N. vulgar: Figueira mata pau — Floresce em dezembro

8) BURSERACEAE
Determinada por L. B. Smith
Protium heptaphyllum (Aubl.) March.
N. vulgar: Almecega — Floresce em Agôsto

9) CANELLACEAE
Determinada por L. B. Smith
Capsicodendron pimenteira Hoehne
N. vulgar: Pau-para-tudo — Floresce em agôsto

10) CARICACEAE
Determinada por E. Asplund
Jaracatia dodecaphylla (Vell.) A. DC.
N. vulgar: Mamão do mato — Floresce em dezembro

11) CELASTRACEAE
Determinada por L. B. Smith
Maytenus alaternoides Reiss
N. vulgar: Coração de bugre — Floresce em novembro

12) COMBRETACEAE
Determinada por A. W. Excell
Buchenavia Kleinii Excell
N. vulgar: Guarajuva — Floresce em janeiro

13) COMPOSITAE
Determinada por H. Merxmüller
Vernonia puberula Less.
N. vulgar: Pau-toucinho — Floresce em novembro

14) ELAEOCARPACEAE
Determinada por C. E. Smith
Sloanea guianensis (Aubl.) Benth
N. vulgar: Laranjeira do mato — Floresce em outubro
Sloanea lasiocoma K. Schum.
N. vulgar: Alecrim — Floresce em novembro

15) EUPHORBIACEAE
Determinada por L. B. Smith & Downs
Actinostemon concolor (Spreng.) Muell. Arg.
N. vulgar: Pau-rainha — Floresce em setembro
Alchornea triplinervia (Spreng) Muell. Arg.
N. vulgar: Tanheiro — Floresce em janeiro
Aparisthmium cordatum (Juss.) Baill.
N. vulgar: Pau-de-facho — Floresce em dezembro
Hyeronima alchornioides Fr. Allem.
N. vulgar: Licurana — Floresce em dezembro
Sebastiania argustidens Pax. & Hoffm.
N. vulgar: Tajuvirinha — Floresce em setembro

16) FLACOURTIACEAE
Determinada por J. Sleumer
Casearia decandra Jacq.
N. vulgar: Cambroé — Floresce em outubro
Casearia silvestris Sw.
N. vulgar: Cafeeiro do mato — Floresce em outubro

17) GUTTIFERAE
Determinada por L. B. Smith
Rheedia Gardneriana Tr. & Pl.
N. vulgar: Bacupari — Floresce em dezembro

18) LAURACEAE
Determinada por E. Asplund
N. vulgar: Canela fogo — Floresce em abril
Nectandra rigida Nees
N. vulgar: Canela garuva
Endlicheria paniculata (Spr.) Macbride
N. vulgar: Canela frade
Nectandra pichurim ?
N. vulgar: Canela sebo
Ocotea indecora ?
N. vulgar: Canela preta — Floresce em outubro
Ocotea pretiosa ?
N. vulgar: Canela-sassafraz
Determinada por L. B. Smith
Ocotea teleiandra (Meissn.) Mez
N. vulgar: Canela pimenta
Ocotea minarum Mart. var. *canescens* (Meisan.) Mez
N. vulgar: Canela-burra
Ocotea aciphylla (Nees) Mez
N. vulgar: Canela-amarela
Nectandra oppositifolia Nees
N. vulgar: Canela-branca

19) LECYTHIDACEAE
Determinada por L. B. Smith
Cariniana estrellensis (Raddi) O. Ktze.

20) LEGUMINOSAE
Determinada por A. Burkart
Andira anthelminthica Benth.
N. vulgar ?
Dalbergia brasiliensis Vog.
N. vulgar: Marmeleiro — Floresce em janeiro
Inga marginata Willd.
N. vulgar: Ingá-feijão
Inga Sellowiana Benth
N. vulgar: Ingá-mirim — Floresce em março
Inga uruguensis Hook at Arn.
N. vulgar: Pau-angelim
Machaerum aculeatum Raddi
N. vulgar: Espinho amarelo — Floresce em fevereiro
Mimosa bimucronata (DC.) O. Ktze.
N. vulgar: Silva — Floresce em janeiro
Pithecollobium Langsdorffii Benth.
N. vulgar: Pau-gambá — Floresce em novembro

Platymiscium floribundum Vog.
N. vulgar: Jacarandá — Floresce em novembro
Pterocarpus violaceus Vog.
N. vulgar: Sangueiro — Floresce em dezembro
Determinada por L. B. Smith
Copaifera oblongifolia Mart.
N. vulgar: Óleo — Floresce em março

21) LINACEAE
Determinada por E. Asplund
Vantanea contracta Urb.
N. vulgar: Guaramirim — Floresce em janeiro e maio

22) MAGNOLIACEAE
Determinada por L. B. Smith
Talauma ovata St. Hil.
N vulgar: Baguaçu — Floresce em novembro

23) MALPIGHIACEAE
Determinada por L. B. Smith
Byrsonima ligustrifolia Juss.
N. vulgar: Pessegueiro do mato — Floresce em outubro

24) MARANTHACEAE
Determinada por L. B. Smith
Galathea zebrina (Sims) Lindl.
N. vulgar: Caeté

25) MELASTOMATACEAE
Determinada por E. Markgraf
Miconia budlejoides Tr.
N. vulgar: Pixirica — Floresce em outubro
Miconia elaeodendrum (DC.) Naud.
N. vulgar: Pixirica — Floresce em janeiro
Miconia holosericea (L.) Tr.
N. vulgar: Pixiricão — Floresce em outubro
Miconia racemifera (DC.) Tr.
N. vulgar. Pixirica
Tibouchina pulchra (Cogn.) Cogn.
N. vulg. Quaresma — Floresce em janeiro
Determinada por R. Reitz
Mouriria Chamissoniana Cogn.
N. vulgar: Guaramirim-ripa

26) MELIACEAE
Determinada por L. B. Smith
Cabralea glaberrima A. Juss.
N. vulgar: Canharana — Floresce em outubro
Cedrela fissilis Vell.
N. vulgar: Cedro — Floresce em dezembro
Guarea verrunculosa C. DC.
N. vulgar: Catiguá morcego — Floresce em dezembro
Trichilia Casarettii C. DC.
N. vulgar: Baga de morcego — Floresce em dezembro
Trichilia tetrapetala C. DC.
N. vulgar: Catiguá — Floresce em agôsto
Trichilia sp.
N. vulgar: Guacá maciele — Floresce em agôsto

27) MONIMIACEAE
Determinada por L. B. Smith
Mollinedia triflora (Spreng.) Tul.
N. vulgar Pimenteira de casca lisa — Floresce em outubro
Mollinedia uleana Perkins
N. vulgar: Pimenteira de casca lisa — Floresce em outubro

28) MORACEAE
Determinada por L. B. Smith
Cecropia adenopus Mart.
N. vulgar: Imbuia — Floresce em maio
Coussapoa Schottii Miq.
N. vulgar: Figueira mata-pau — Floresce em dezembro
Ficus anthelmintica Mart.
N. vulgar: Figueira purgante — Floresce em novembro
Ficus subtriplinervia Mart.
N. vulgar: Figueira de fôlhas miúdas — Floresce em janeiro
Pourouma acutiflora Tréc.
N. vulgar: Imbaúba do norte
Sorocea ilicifolia Miq.
N. vulgar: Carapicica — Floresce em setembro

Determinada por R. Reitz
Brosimopsis lactescens S. Morre
N. vulgar: Leiteiro — Floresce em dezembro

29) MYRISTICACEAE
Determinada por A. C. Smith
Virola oleifera (Schott.) A. C. Sm.
N. vulgar Bicuiba — Floresce em janeiro

30) MYRSINACEAE
Determinada por L. B. Smith
Ardisia catharinensis Mez
N. vulgar: Baga de bomba — Floresce em setembro
Rapanea ferruginea (R. & P.) Mez
N. vulgar: Capororoca — Floresce em abril
Rapanea umbellata (Mart.) Mez
N. vulgar: Capororocão — Floresce em maio

31) MYRTACEAE
Determinada por D. Legrand
Calycorectes Schottianus Berg.
N. vulgar: Mamona — Floresce em outubro
Calyptranthes obscura DC.
N. vulgar: Guaramirim ferro — Floresce em agôsto
Campomanesia catharinae Legr.
N. vulgar: Guabiroba — Floresce em junho
Eugenia ceraciflora Miq.
N. vulgar: Mamoneira — Floresce em março
Eugenia leptoclada Berg.
N. vulgar: Goiabeira do mato
Eugenia oblongata Berg.
N. vulgar: Farinha sêca — Floresce em janeiro
Eugenia psidiiflora Berg.
N. vulgar: Guaramirim — Floresce em julho
Gomidesia spectabilis (DC.) Berg.
N. vulgar: Guaramirim vermelho — Floresce em janeiro
Gomidesia tijucensis (Kiaersk.) Legr.
N. vulgar: Ingabaú — Floresce em fevereiro
Marlierea parviflora Berg.
N. vulgar: Araçàzeiro — Floresce em novembro
Marlierea racemosa (Vell.) Kiaersk.
N. vulgar: Guaramirim branco — Florece em janeiro
Marlierea silvatica (Gardn.) Kiaersk.
N. vulgar: Guaramirim chorão — Floresce em janeiro
Marlierea tomentosa Camb.
N. vulgar: Guarapuruna — Floresce em março
Myrcia gracilis Berg.
N. vulgar: Guaramirim — Floresce em janeiro
Myrcia pubipetala Miq.
N. vulgar: Guaramirim araçá — Floresce em fevereiro

32) NYCTAGINACEAE
Determinada por R. Reitz
Torrubia olfersiana (Lk., Kl. et Otto) Standl.
var. *nitida* (Heimerl) Reitz
N. vulgar: Maria-mole — Floresce em novembro

33) OCHNACEAE
Determinada por E. Asplund
Ouratea parviflora (DC.) Baill.
N. vulgar: Guaraparim — Floresce em fevereiro

34) OLACACEAE
Determinada por L. B. Smith
Heisteria Silvianii Schwacke
N. vulgar: Casco de tatu

35) PALMAE
Determinada por R. Reitz
Arecastrum Romanzoffianum (Cham.) Becc.
var. *genuinum* Becc.
N. vulgar: Coquinho
Bactris Lindmaniana Dr.
N. vulgar: Tucum
Euterpe edulis Mart.
N. vulgar: Palmito
Geonoma Schottiana Mart. var. *genuina* Dr.
N. vulgar: Palha
Geonoma Schottiana Mart. var. *palustris* (Warm.) Dr.
N. vulgar: Palha do brejo

36) PIPERACEAE
Determinada por L. B. Smith
Piper Gaudichaudianum Kunth.
N. vulgar: Murta — Floresce em dezembro
Piper Richadiaefolium Kunth.
N. vulgar: Pariparoba — Floresce em agôsto

37) PHYTOLACCACEAE
Determinada por L. B. Smith
Seguieria Glaziovii Briq.
N. vulgar: Limoeiro do mato — Floresce em dezembro

38) POLYGONACEAE
Determinada por L. B. Smith
Coccoloba rubra L. B. Sm.
N. vulgar: Catuteiro vermelho — Floresce em novembro

39) QUIINACEAE
Determinada por E. Asplund
Quiina Glaziovii Engler
N. vulgar: Catuteiro vermelho — Floresce em novembro

40) ROSACEAE
Determinada por L. B. Smith
Licania sp.
N. vulgar: Catuteiro branco
Determinada por E. Asplund
Hirtella hebeclada Moric.
N. vulgar: Cinzeiro — Floresce em dezembro
Prunus Sellowii Koehne
N. vulgar: Arma de serra — Floresce em março

41) RUBIACEAE
Determinada por L. B. Smith
Psychotria alba R. & P.
N. vulgar: Carne de vaca — Floresce em janeiro
Psychotria longipes Muell. Arg.
N. vulgar: Caixeta
Rudgea jasminoides Muell. Arg.
N. vulgar: Pimenteira — Floresce em outubro
Determinada por E. Asplund
Amaiua guianensis Aubl. var. *brasiliensis* Schum.
N. vulgar: Carvoeiro — Floresce em janeiro
Bathysia australis Hook f.
N. vulgar: Macuqueiro — Floresce em dezembro
Faramea montividensis (Cham. & Schl.) DC.
N. vulgar: Pimenteira selvagem — Floresce em agôsto
Posoqueria latifolia (Rudge) R. & P.
N. vulgar: Baga de macaco — Floresce em dezembro
Psychotria suterella Muell. Arg.
N. vulgar: Buta — Floresce em março

42) RUTACEAE
Determinada por E. Asplund
Esembeckia grandiflora Mart.
N. vulgar: Cutia — Floresce em fevereiro

43) SAPINDACEAE
Determinada por L. B. Smith
Matayba guianensis Aubl.
N. vulgar: Camboatá — Floresce em novembro

44) SAPOTACEAE
Determinada por L. B. Smith
Chrysophyllum inornatum Mart.
N. vulgar: Caixeta amarela — Floresce em dezembro
Determinada por J. Monachino
Pouteria venosa (Mart.) Baehni
N. vulgar: Guacá de leite — Floresce em junho

45) SOLANACEAE
Determinada por L. B. Smith
Solanum acuminatum R. & P.
N. vulgar: Canema — Floresce em dezembro
Determinada por R. Scolnick
Cestrum amictum Schlecht. var. *longiflorum* Sendt.
N. vulgar: Baga de bugre — Floresce em setembro

46) THYMELAEACEAE
Determinada por H. MERXMÜLLER
Funifera fasciculata Meissn.
N. vulgar: Embira branca — Floresce em outubro

47) VERBENACEAE
Determinada por H. N. MOLDENKE
Vitex megapotanica (Spreng.) Moldenke
N. vulgar: Tarumão — Floresce em novembro

48) CYATHEACEAE
Determinada por R. REITZ
Alsophila corcovadensis Fée
N. vulgar: Xaxim
Alsophila phalerata Mart.
N. vulgar: Xaxim
Cyathea schanschin Mart.
N. vulgar: Xaxim
Hemitelia setosa Metten.
N. vulgar: Xaxim

RELAÇÃO "BROMELIÁCEA-KERTESZIA"

Depois da descrição fitossociológica em que procuramos evidenciar e caracterizar os tipos de mata e diferentes estágios de evolução climática, resultante do abaixamento das águas fluviais, devemos entrar no estudo pròpriamente dito do problema "bromeliácea-kerteszia".

Podemos dizer, de modo geral, que sòmente uns poucos fatôres são realmente importantes, e dentre êles devemos ressaltar o volume de água bem como a altura em que as bromeliáceas se acham fixadas.

Passamos em rápida revista os fatôres que consideramos menos essenciais para melhor nos deter nos que achamos ser de maior valor.

1.°) *Idade do biótipo* — Verificamos em tôdas as matas que os indivíduos adultos têm maior índice de ovoposição e maior valor epidemiológico (*índice MK*), mas as diferenças nos números índices da positividade não são significantes. Isto pode ser fàcilmente explicado pelo fato de os exemplares adultos terem maior volume de água e serem muito mais numerosos que os jovens — a relação entre indivíduos jovens e adultos varia em tôrno de 1 para 4.

2.°) *Situação do biótopo* — Quanto à situação, as bromeliáceas podem ser incluídas, arbitràriamente, nos seguintes itens:

a) Húmus (solo),
b) árvores e arbustos inclinados a mais de 20 graus,
c) árvores e arbustos eretos e
d) galhos.

Na mata do São Pedro, o valor do *índice MK* é mais elevado nos biótopos fixados em árvores e arbustos eretos. Na comunidade do Mueller, são mais importantes, com maior *índice MK*, os presos em galhos, apesar de terem, nesse caso, índices de positividade e ovoposição de menor valor, pelo fato de serem muito mais numerosas. Na mata da Azambuja, se considerarmos a positividade, veremos que são mais importantes: na zonação "A" os estabelecidos em árvores e arbustos eretos, na associação "B" e "C" os que se firmam em galhos, sendo que na última o seu valor é relativamente pequeno; daí acharmos de maior valor para esta comunidade as bromeliáceas existentes nas árvores e arbustos eretos. Damos a seguir um quadro que bem retrata a importância das diferentes situações:

QUADRO (XI) DO *ÍNDICE MK* EM RELAÇÃO À SITUAÇÃO DO BIÓTOPO

SITUAÇÃO	São Pedro	Mueller	Azambuja total	AZAMBUJA			Média geral
				"A"	"B"	"C"	
Húmus (solo)	66	5	570	144	282	1 284	213
Arvores e arbustos inclinados com mais de 20 graus	106	58	738	355	564	1 296	300
Arvores e arbustos eretos	1 047	87	878	472	620	1 296	670
Galhos	258	503	702	94	962	1 542	487

3.º) *Sociabilidade dos biótopos* — Verificamos que os grupos de mais de 10 indivíduos (e às vêzes os de mais de 6) apresentam uma diminuição significante no índice de ovoposição. As razões dêstes diferentes valores se devem relacionar com o tipo de certas bromeliáceas que, por sua ecologia, se distribuem nas alturas de maior ou menor densidade dos anofelinos do subgênero *Kerteszia*.

QUADRO (XII) DO *ÍNDICE MK* EM RELAÇÃO À SOCIABILIDADE DO BIÓTOPO

SOCIABILIDADE	São Pedro	Mueller	Azambuja total	AZAMBUJA			Média geral
				"A"	"B"	"C"	
Isoladas	180	83	3 096	768	537	1 880	1 119
Grupos de 2	204	130	2 624	905	724	677	986
Grupos de 3 a 5	348	288	3 815	1 652	845	608	1 483
Grupos de 6 a 10	135	153	939	401	140	252	409
Grupos de mais de 10	26	73	313	34	182	200	137

4.º*Periodicidade larvária* — Estudamos a distribuição dos índices de positividade e ovoposição através dos meses. Observamos que, ainda que a positividade se mantenha constante, o índice de ovoposição varia muito. Assim é que, nas associações do Mueller e da Azambuja "B", a ovoposição apresenta máximos com valores idênticos. Em São Pedro e Azambuja "A" a presenta-se com um máximo, bastante evidente nos meses de março e abril e, na zonação "C", vários máximos do mesmo valor, sendo que um dêles é algo maior em abril.

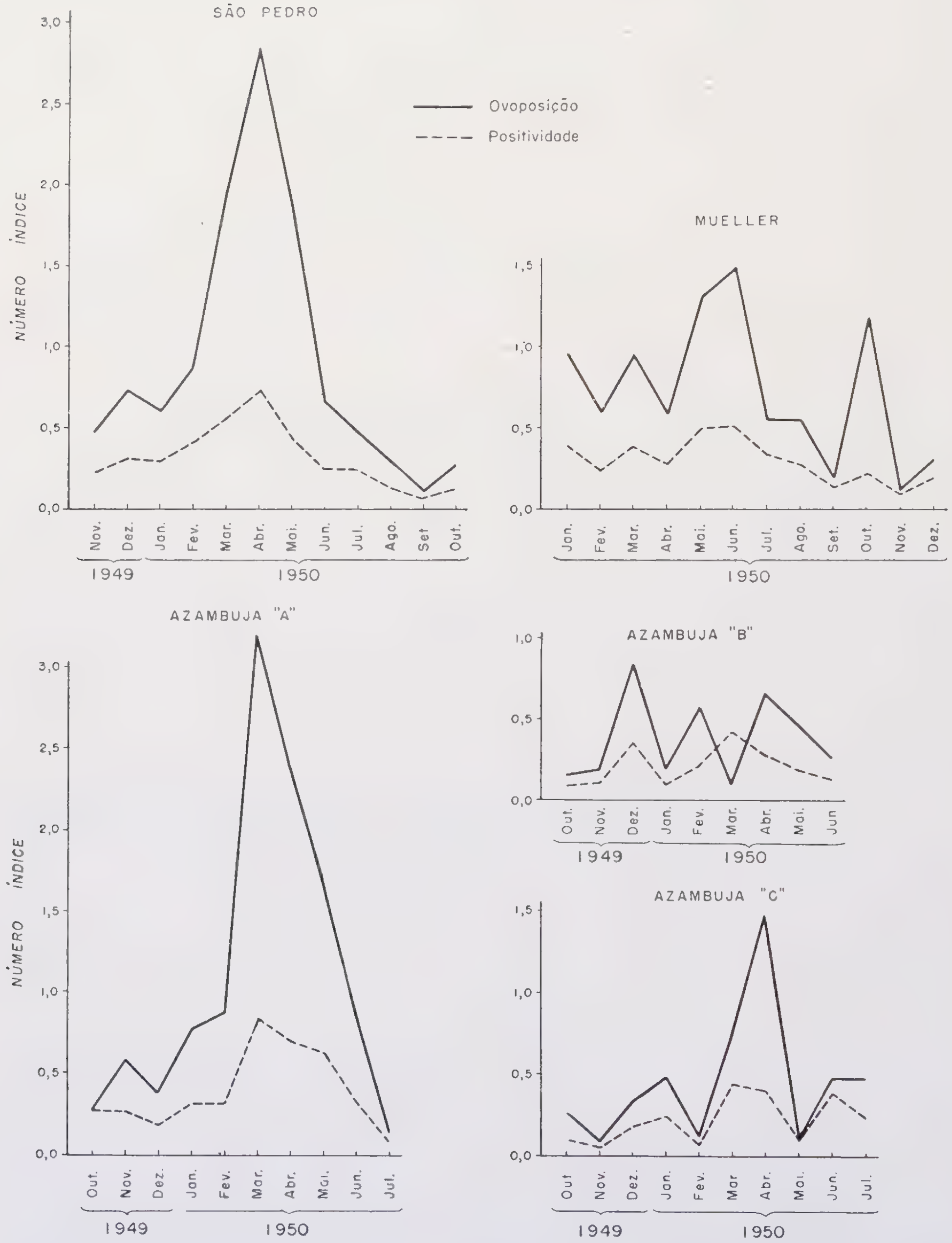


Gráfico 6 — As matas São Pedro e Azambuja "A" apresentam curvas semelhantes de periodicidade, porque as espécies *cruzii-homunculus* são bastante próximas. A espécie *bellator* apresenta três máximos por ano, com podemos ver em Azambuja "C", coincidindo um dêles com o máximo de *cruzii-homunculus* (de fevereiro a maio). Há pequenas defasagens nesta periodicidade que podemos atribuir à variações ecológicas nos diferentes tipo de mata.

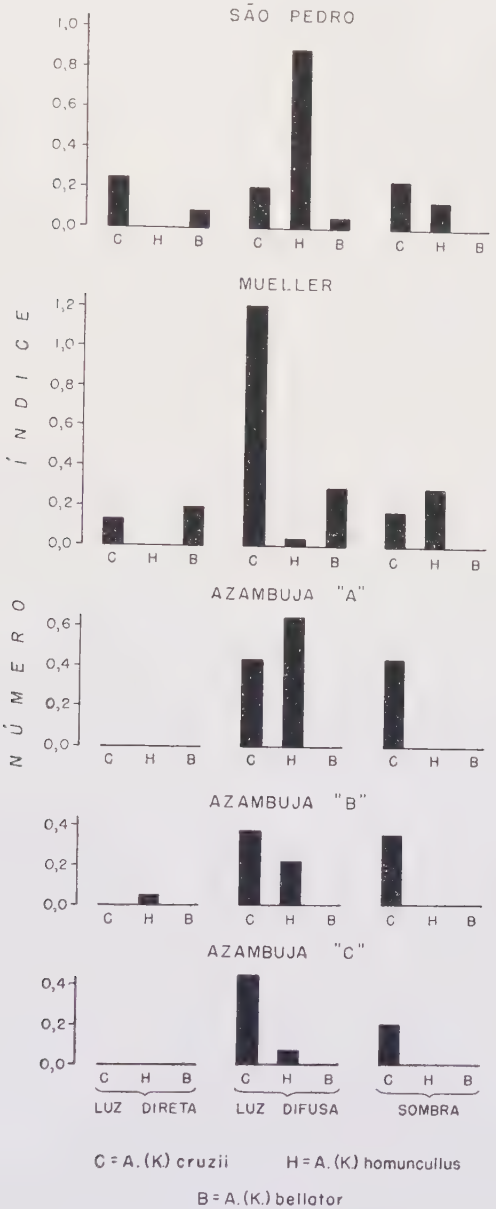


Gráfico 7 — Tolerância do biótipo

5.°) *Tolerância do biótopo* (fator luminosidade) — Procuramos verificar a importância da luz, estudando a sua influência em três itens:

a) Sombra,

b) Luz difusa e

c) Luz direta.

Os resultados foram bastante expressivos no tocante às diferentes proporções de distribuição das três espécies dos anofelinos em questão. O gráfico que damos abaixo, comparando diferentes estimativas dos índices de ovoposição para cada espécie e em cada item considerado, mostra, com bastante clareza, que o *Anopheles* (*K.*) *homunculus* é espécie de zona sombria, enquanto que as outras duas, *A.* (*K.*) *cruzii* e *A.* (*K.*) *bellator,* são de luz difusa.

6.°) *Índice MK por espécie de bromeliácea* — Como definimos na parte dos métodos, o *índice MK* é um número complexo que encerra os fatôres de positividade, capacidade individual de criação dos mosquitos e número total de biótopos por unidade de área. De tal modo que, ao nosso ver, é a melhor idéia que se pode dar referente ao maior ou menor valor epidemiológico de uma espécie de bromeliácea, de um determinado volume de água, de uma altura definida, de uma das comunidades estudadas ou ainda a região em estudo. Uma das questões de interêsse epidemiológico que tínhamos a resolver era, justamente, saber se certas espécies de bromeliáceas apresentavam maior importância que outras ou não. Nossos estudos demonstram que realmente há espécies mais importantes, bastando para isto verificar os gráficos abaixo que apresentam os diferentes valores de *MK*.

Entretanto, não atribuímos a estas espécies nenhum fator intrínseco especial. A nosso ver, elas são importantes pelo seu número, volume de água, altura de fixação nos hospedadores ou ainda pela situação, concorrentes dêstes fatôres.

7.°) *Altura dos biótopos* — O estudo do fator altura nos trouxe resultados muito interessantes, aliás como esperávamos desde o início de nossas pesquisas, em observações de campo. A êsse fator estão ligados vários outros, de maneira complexa, alguns dos quais não é fácil tornar distinto. Temos, assim, a luminosidade ìntimamente ligada à altura; à quantidade de detritos vegetais que caem sôbre a mesma área base que pode variar com a altura examinada, determinando diferentes concentrações de matéria orgânica e mineral, e assim melhorando ou piorando as condições de vida do plancton nas águas coletadas no embricamento das fôlhas das bromeliáceas, tornando-as melhores ou piores criadouros de larvas.

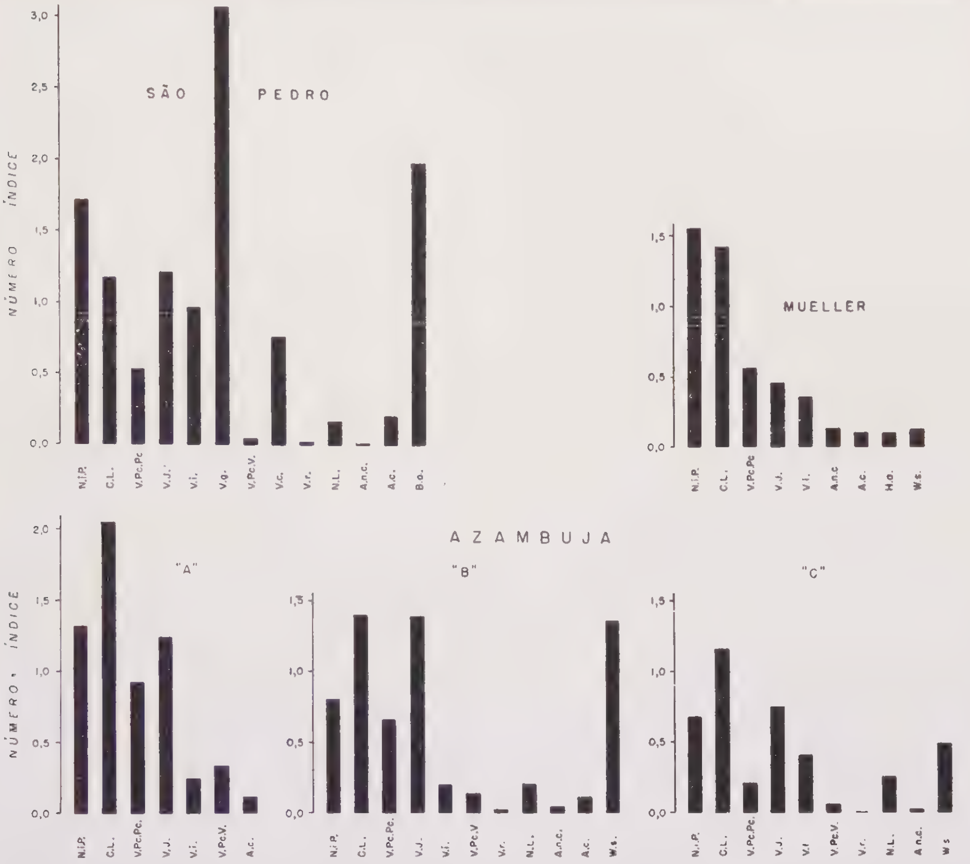


Gráfico 8 — Índice de ovoposição das bromeliáceas mais importantes nas diferentes comunidades.

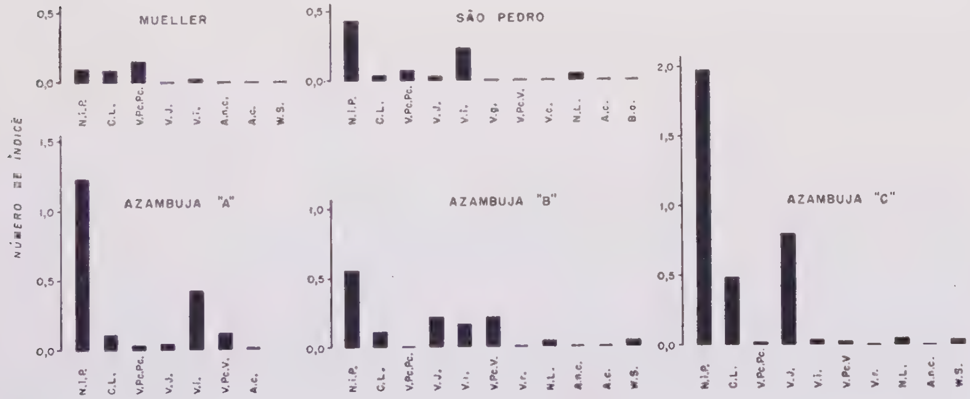


Gráfico 8-A — Índice MK das bromeliáceas mais importantes nas comunidades estudadas.
NOTA: o *MK* acima foi divido por mil.

Quadro XIII

COMUNIDADE DE SÃO PEDRO

DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES POR ALTURA

DADOS	ALTURAS EM METROS					
ESPÉCIES de bromeliáceas	Menos de 1	De 1 a 5	De 5 a 10	De 10 a 15	De 15 a 20	Mais de 20
Nidularium innocentii Lem. var. *Paxianum* (Mez) L.B.Smith	0,560	0,426	0,005			
Vriesia incurvata Gaud.	0,118	0,860	0,017	0,005		
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *Phelippovogii* Wawra	0,008	0,043	0,233	0,540	0,168	0,008
Vriesia Rodigasiana E. Morr.	0,012	0,062	0,229	0,229	0,229	0,468
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *vagans* L.B. Smith	0,012	0,214	0,666	0,084	0,024	
Aechmea nudicaulis (L.) Griseb. var. *cuspidata* Baker	0,036	0,090	0,125	0,410	0,303	0,018
Canistrum Lindenii (Regel) Mez	0,054	0,486	0,324	0,109	0,027	
Neoregelia laevis (Mez) L.B.Smith	0,031	0,218	0,437	0,283	0,031	
Vriesia Jonghii (Linbon ex Koch) E. Morr.	0,097	0,387	0,419	0,097		
Aechmea cylindrata Lindm.	0,061	0,470	0,235	0,117	0,117	

COMUNIDADE DO MUELLER

DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES POR ALTURA

DADOS	ALTURA EM METROS					
ESPÉCIES de bromeliáceas	Menos de 1	De 1 a 5	De 5 a 10	De 10 a 51	De 15 a 20	Mais de 20
Nindularium innocentii Lem. var. *Paxianum* (Mez) L.B. Smith	0,265	0,687	0,048			
Vriesia incurvata Gaud.	0,059	0,612	0,313	0,016		
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *Phelippocoburgii* Wawra	0,076	0,022	0,042	0,245	0,387	0,288
Aechmea nudicaulis (L.) Griseb. var. *cuspidata* Baker	0,109	0,270	0,504	0,117		
Aechmea cylindrata Lindm.	0,120	0,435	0,398	0,047		
Canistrum Lindenii (Regel) Mez	0,017	0,138	0,230	0,492	0,123	
Vriesia carinata Wawra	0,043	0,228	0,704	0,025		
Vriesia Jonghii (Linbon ex Koch) E. Morr.			0,122	0,166	0,389	0,333

COMUNIDADE DA AZAMBUJA

Zonação "A"

DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES POR ALTURA

DADOS	ALTURA EM METROS					
ESPÉCIES de bromeliáceas	Menos de 1	De 1 a 5	De 5 a 10	De 10 a 15	De 15 a 20	Mais de 20
Nidularium innocemtii Lem. var. *Paxianum* (Mez) L.B.Smith	0,355	0,633	0,011	0,001		
Vriesia incurvata Gaud.	0,068	0,684	0,139	0,101	0,008	
Vriesia Phelipopcoburgii Wawra var. *vagans* L.B.Smith	0,054	0,174	0,234	0,483	0,155	
Vriesia Rogasiana E. Morr.				0,117	0,489	0,394
Aechmea nudicaulis (L.) Griseb. var. *cuspidata* Baker			0,180	0,700	0,120	
Aechmea cylindrata Lindm.	0,282	0,608	0,110			
Canistrum Lindenii (Regel) Mez			0,098	0,829	0,073	
Vriesia carinata Wawra	0,395	0,441	0,139	0,025		
Noeregelia Laevis (Mez) L.B.Smith		0,048	0,119	0,809	0,024	
Vriesia Jonghii (Linbon ex Koch) E. Morr.	0,038	0,038	0,423	0,423	0,078	

Quadro XIII

COMUNIDADE DA AZAMBUJA

Zonação "B"

DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES POR ALTURA

DADOS ESPÉCIES de bromeliáceas	ALTURA EM METROS					
	Menos de 1	De 1 a 5	De 5 a 10	De 10 a 15	De 15 a 20	Mais de 20
Nidularium innocentii Lem. var. *Paxianum* (Mez) L.B.Smith	0,477	0,466	0,005	0,037	0,015	
Vriesia incurvata Gaud.		0,102	0,577	0,087	0,200	0,034
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *vagans* L. B. Smith		0,011	0,023	0,643	0,243	0,080
Vriesia Rodigasiana E. Morr.		0,013	0,036	0,361	0,566	0,024
Aechmea nudicaulis (L.) Griseb. var. *cuspidata* Baker		0,078	0,194	0,668	0,060	
Aechmea cylindrata Lindm.		0,034	0,096	0,312	0,469	0,089
Canistrum Lindenii (Regel) Mez		0,143	0,223	0,458	0,176	
Vriesia carinata Wawra		0,283	0,356	0,223	0,092	0,046
Noregeli laevis (Mez) L.B.Smith	0,038	0,091	0,091	0,740	0,020	0,020
Vriesia Jonghii (Linbon ex Koch) E. Morr.		0,013	0,291	0,587	0,109	
Wittrockia superba Lindm.		0,140	0,175	0,565	0,140	

COMUNIDADE DA AZAMBUJA

Zonação "C"

DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES POR ALTURA

DADOS ESPÉCIES de bromeliáceas	ALTURA EM METROS					
	Menos de 1	De 1 a 5	De 5 a 10	De 10 a 15	De 15 a 20	Mais de 20
Nidularium innocentii Lem. var. *Paxianum* (Mez) L.B.Smith	0,987	0,013				
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *vagans* L. B. Smith		0,122	0,160	0,512	0,206	
Vriesia Rodigasiana E. Morr.	0,004	0,002	0,141	0,383	0,427	0,043
Vriesia carinata Wawra	0,078	0,200	0,228	0,307	0,138	0,049
Canistrum Lindenii (Regel) Mez	0,741	0,044	0,101	0,114		
Neoregelia laevis (Mez) L.B.Smith	0,147	0,219	0,439	0,195		
Vriesia Jonghii (Linbon ex Koch) E. Morr.		0,111	0,352	0,419	0,110	0,008
Aechmea nudicaulis (L.) Griseb. var. *cuspidata* Baker	0,741	0,044	0,101	0,114		

A possível distribuição de microclimas dentro da mata, pelas alturas consideradas, influi não só diretamente sôbre as espécies dos anofelinos do subgênero *Kerteszia* (influência qualitativa) como indiretamente na ecologia e distribuição das bromeliáceas mais numerosas e de melhores características para criadouros de larvas (influência quantitativa).

O estudo bem cuidado, porém, da distribuição do biótopo por altura, pode dar-nos uma imagem média de todos êstes fatôres. É o que pensamos ter verificado sôbre a disposição das espécies de bromeliáceas de maior índice, na localização vertical de tôdas elas, como na distribuição do *índice MK* relativo a cada uma das três espécies de *Kerteszia*, estudada através das diferentes alturas.

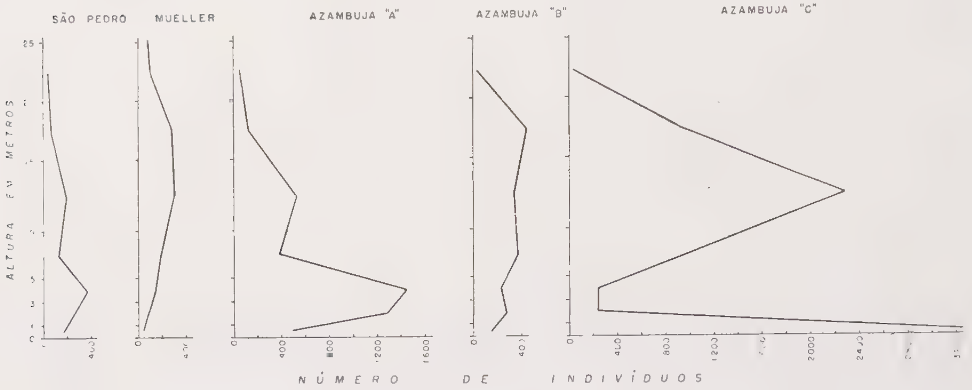


Gráfico 9 — Distribuição total das bromeliáceas por altura nas diferentes comunidades.

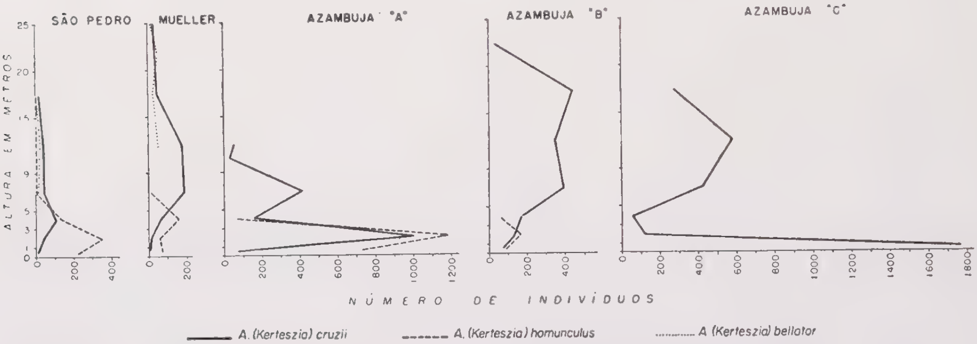


Gráfico 9-A — Distribuição por altura do *índice MK* relativo as três espécies do subgênero *Kerteszia* nas comunidades estuda

NOTA: — A ecologia e a distribuição das bromeliáceas e dos anofelinos quase que se interpenetram e confundem. Basta um exame das tabelas e gráficos da distribuição de bromeliáceas por altura, para compreender a importância das espécies individualizadas, bem como a sua maior ou menor relação com uma determinada espécie de *Kerteszia*.

Quadro XIV

ATLAS PLUVIOMÉTRICO DO BRASIL (1914-1938) Dep. Nac. Prod. Min. 1938

Comparação das normais do período 1914-1938, *com as de períodos totais até* 194

POSTO PLUVIOMETRICO DE BRUSQUE.	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Maio	Jun.	Jul.	Agost.	Set.	Out.	Nov.	Dez.	Anual
1914—1908........	226,0	192,7	172,4	144,8	123,9	126,4	74,6	119,3	158,3	170,8	134,1	146,5	1 879,8
1906—1942........	225,0	209,8	165,4	139,7	119,9	110,9	83,7	112,6	157,8	161,2	152,3	152,1	1 790,4
Percentagem (%)...	0	—8	+4	+4	+3	+14	—11	+6	0	+6	—12	—4	—1

8.º) *Volume de água dos biótopos* — Como já dissemos, o volume de água das bromeliáceas é um dos fatôres mais importantes para as condições de criação das larvas e pupas. O volume de água coletado no imbricamento das fôlhas é considerável; em vários exemplares de macrofenerófitas (*Ficus subtriplinervia, Alchornea triplinervia,* etc.), fizemos uma estimativa do total de água coletada nos biótopos ali afixados, concentrando valores entre 200 e 300 litros.

Verificamos que a positividade cresce sempre com o volume de água, entretanto o índice larvário apresenta um máximo entre 50 e 200 cm^3. A razão por que as bromeliáceas com êste volume de água são melhores criadouros de larvas não parece estar bem esclarecida. Pensamos que ela deve estar ligada a concentraçõs de matéria orgânica que, em última análise, determinaria a riqueza do plancton, entretanto, só depois das análises dos dados coletados pelo Dr. FIRMINO TORRES DE CASTRO, isto é, a publicação do estudo mais aprofundado da água das bromeliáceas e seu respectivo plancton poderá, a nosso ver, esclarecer a questão. O fator número de biótopos, influi também decisivamente, modificando inteiramente o quadro: como, por exemplo, na mata do São Pedro, em que as bromeliáceas com menos de 25 cm^3 de volume de água, passam a ser de maior importância por causa de sua maior incidência.

Quadro XV

COMUNIDADE DO SÃO PEDRO

QUADRO DAS ESPÉCIES DE BROMELIÁCEAS EM RELAÇÃO AO VOLUME DE ÁGUA

ESPÉCIES de bromeliáceas	**DADOS — VOLUME DE ÁGUA EM ml**						
	Menos de 25	**De 25 a 50**	**De 50 a 100**	**De 100 a 200**	**De 200 a 400**	**De 400 a 800**	**De 800 a 1600**
Nidularium innocentii Lem. var. *Paxianum* (Mez) L.B.Smith	0,355	0,392	0,189	0,051	0,013		
Vriesia incurvata Gaud.	0,367	0,430	0,178	0,024	0,001		
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. Phelippocoburgii Wawra	0,065	0,130	0,218	0,238	0,218	0,116	0,015
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var *vagans* L. B. Smith	0,321	0,465	0,200	0,014			
Vriesia Rodigasiana E. Morr.	0,434	0,440	0,113	0,013			
Aechmea nudicaulis (L.) Griseb. var. *cuspidata* Baker	0,250	0,493	0,248	0,009			
Vriesia Jonghii (Linbon ex Koch) E. Morr.	0,040	0,089	0,153	0,154	0,262	0,247	0,055
Neoregelia laevis (Mez) L.B.Smith	0,275	0,440	0,256	0,029			
Canistrum Lindenii (Regel) Mez	0,123	0,225	0,250	0,164	0,164	0,070	0,004

COMUNIDADE DO MUELLER

QUADRO DAS ESPÉCIES DE BROMELIÁCEAS EM RELAÇÃO AO VOLUME DE ÁGUA

ESPÉCIES de bomeliáceas	**DADOS — VOLUME DE ÁGUA EM ml**						
	Menos de 25	**De 25 a 50**	**De 50 a 100**	**De 100 a 200**	**De 200 a 400**	**De 400 a 800**	**De 800 a 1 600**
Nidularium innocentii Lem. var. *Paxianum* (Mez) L.B.Smith	0,450	0,395	0,099	0,056			
Vriesia incurvata Gaud.	0,419	0,467	0,081	0,033			
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *Phelippocoburgii* Wawra	0,034	0,090	0,168	0,316	0.283	0,103	0,006
Aechmea nudicaulis (L.) Griseb. var. *cuspitada* Baker	0,259	0,629	0,099	0,013			
Aechmea cylindrata Lindm.	0,800	0,200					
Canistrum Lindenii (Regel) Mez	0,071	0,159	0,270	0,296	0,156	0,045	0,003
Vriesia Jonghii (Linbon ex Koch) E. Morr.	0,071	0,158	0,268	0,294	0,155	0,046	0,008

Quadro XV (continuação)

COMUNIDADE DA AZAMBUJA

Zonação "A"

QUADRO DAS ESPÉCIES DE BROMELIÁCEAS EM RELAÇÃO AO VOLUME DE ÁGUA

DADOS	VOLUME DE ÁGUA EM ml						
ESPÉCIES de bromeliáceas	Menos de 25	de 25 a 50	De 50 a 100	De 100 a 200	De 200 a 400	De 400 a 800	De 800 a 1 600
Nidularium innocentii Lem. var. *Paxianum* (Mez) L.B.Smith	0,221	0,358	0,289	0,117	0,015		
Vriesia incurvata Gaud.	0,352	0,450	0,192	0,006			
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *vagans* L.B. Smith	0,349	0,492	0,158				
Neoregelia laevis (Mez) L.B.Smith	0.320	0,400	0,240	0,040			
Canistrum Lindenii (Regel) Mez	0,057	0,176	0,349	0,290	0,122	0,006	
Aechmea nudicaulis (L.) Griseb. var. *cuspitada* Baker	0,150	0,550	0,300				
Aechmea cylibdrata Lindm.	0,555	0,445					

COMUNIDADE DA AZAMBUJA

Zonação "B"

QUADRO DAS ESPÉCIES DE BROMELIÁCEAS EM RELAÇÃO AO VOLUME DE ÁGUA

DADOS	VOLUME DE ÁGUA EM ml						
ESPÉCIES de bromeliáceas	Menos de 25	De 25 a 50	De 50 a 100	De 100 a 200	De 200 a 400	De 400 a 800	De 800 a 1 600
Nidularium innocentii Lem. var. *Paxianum* (Mez) L·B.Smith	0,259	0,370	0,295	0,069	0,007		
Vriesia incurvata Gaud.	0,371	0,450	0,170	0,009			
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *vagans* L. B. Smith	0,353	0,493	0,148	0,006			
Vriesia Rogasiana E.Morr.	0,542	0,421	0,037				
Vriesia carinata Wawra	0,918	0,082					
Vriesia Jonghii (Linbon ex Koch) E. Morr.	0,058	0,148	0,193	0,206	0,213	0,174	0,008
Neoregelia laevis (Mez) L. B. Smith	0,181	0,418	0,351	0,020			
Canistrum Lindenii (Regel) Mez	0,059	0,070	0,223	0,353	0,258	0,037	
Aechmea nudicaulis (L.) Griseb. var. *cuspidata* Baker	0,450	0;431	0,119				
Aechmea cylindrata Lindm.	0,275	0,586	0,139				

COMUNIDADE DA AZAMBUJA

Zonação "C"

QUADRO DAS ESPÉCIES DE BROMELIÁCEAS EM RELAÇÃO AO VOLUME DE ÁGUA

DADOS	VOLUME DE ÁGUA EM ml						
ESPÉCIES de bromeliáceas	Menos de 25	De 25 a 50	De 50 a 100	De 100 a 200	De 200 a 400	De 400 a 800	De 800 a 1 600
Nidularium innocentii Lem. var. *Paxianum* (Mez) L.B.Smith	0,068	0,252	0,324	0,327	0,029		
Vriesia Phelippocoburgii Wawra var. *vangas* L.B.Smith	0,342	0,505	0,145	0,008			
Vriesia Rodigasiana E. Morr.	0,482	0,339	0,179				
Vriesia carinata Wawra	0,920	0,080					
Vriesia Jonghii (Linbon ex Koch) E. Morr.	0,126	0,100	0,205	0,179	0,236	0,126	0,028
Canistrum Lindenii (Regel) Mez	0,004	0,089	0,179	0,269	0,337	0,112	
Aechmea nudiculis (L.) Griseb. var. *cuspidata* Baker	0,300	0,433	0,267				
Aechmea cylindrata Lindm.	0,500	0,500					

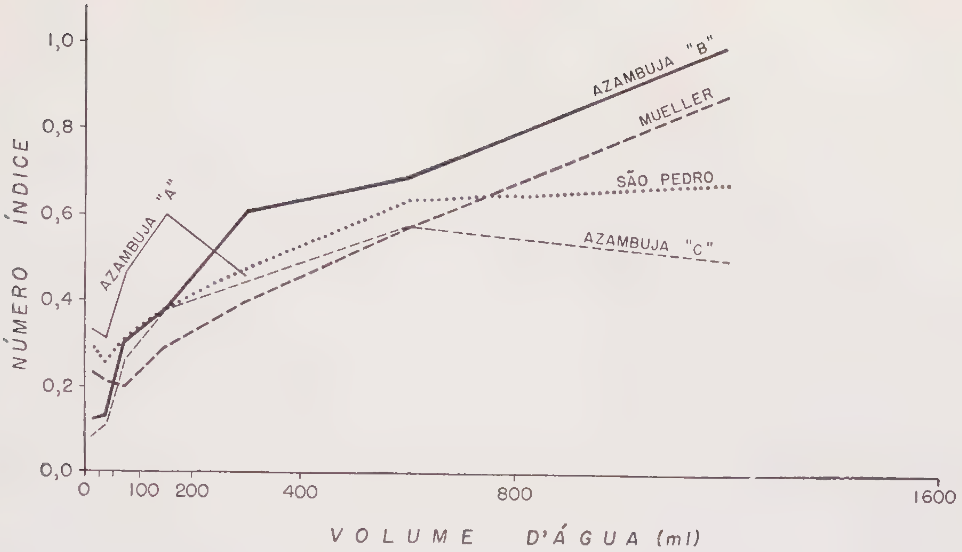


Gráfico 10 — Distribuição da positividade por volume de água.

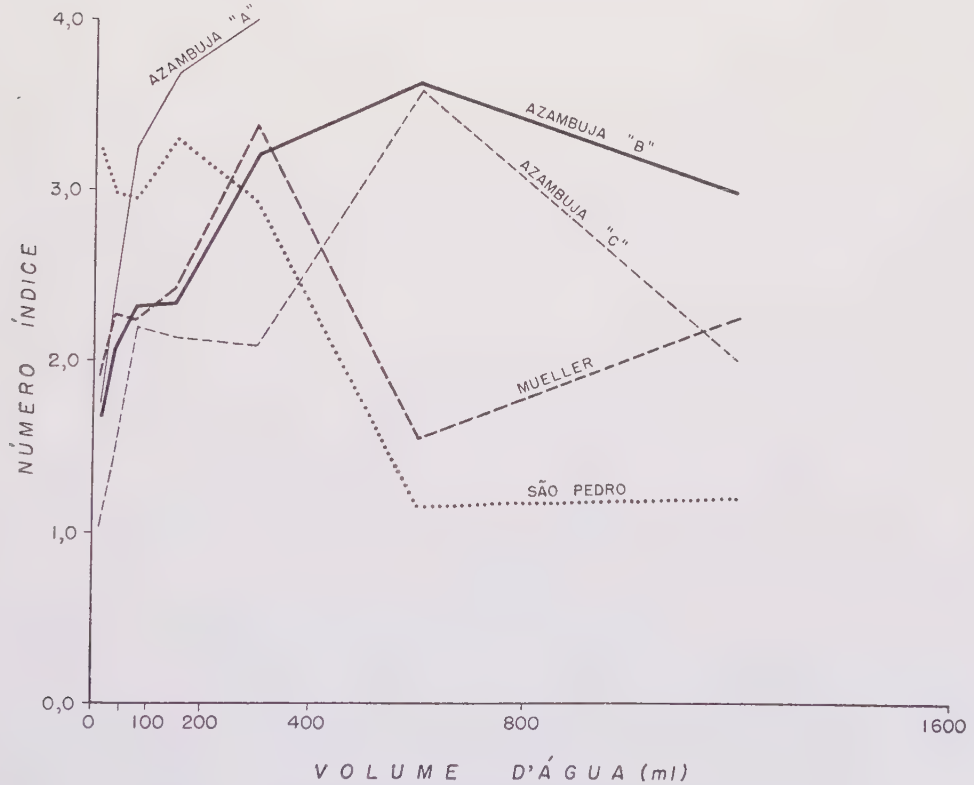


Gráfico 10-A — Distribuição do índice lervário por volume de água.

A distribuição dos diferentes índices em relação ao volume de água, mostra:

1.°) A positividade cresce sempre com o volume de água.
2.°) O índice larvário apresenta um máximo entre 100 ml e 400ml (São Pedro e Mueller) ou entre 400ml e 800ml (Azambuja "B" e "C").

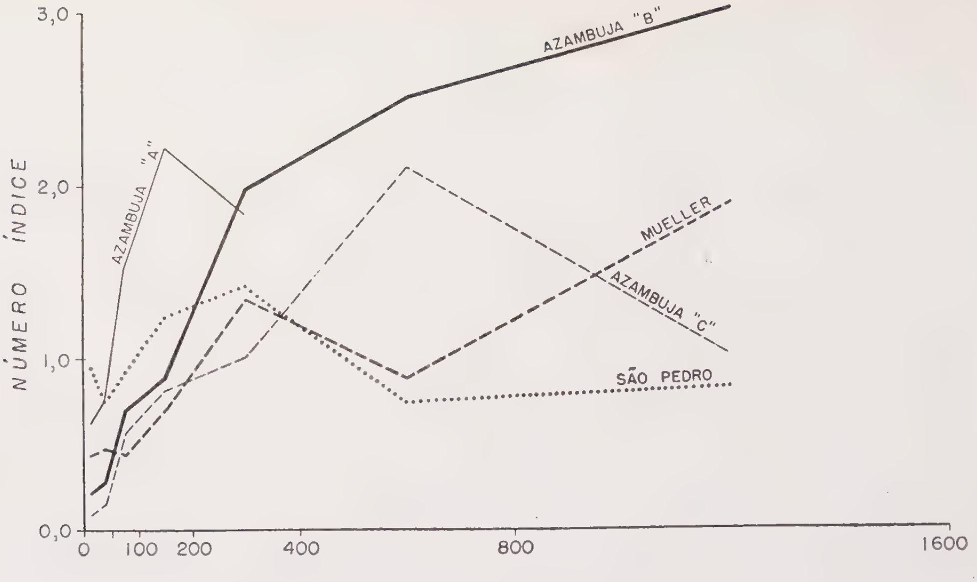


Gráfico 10-B — Distribuição da ovoposição por volume de água.

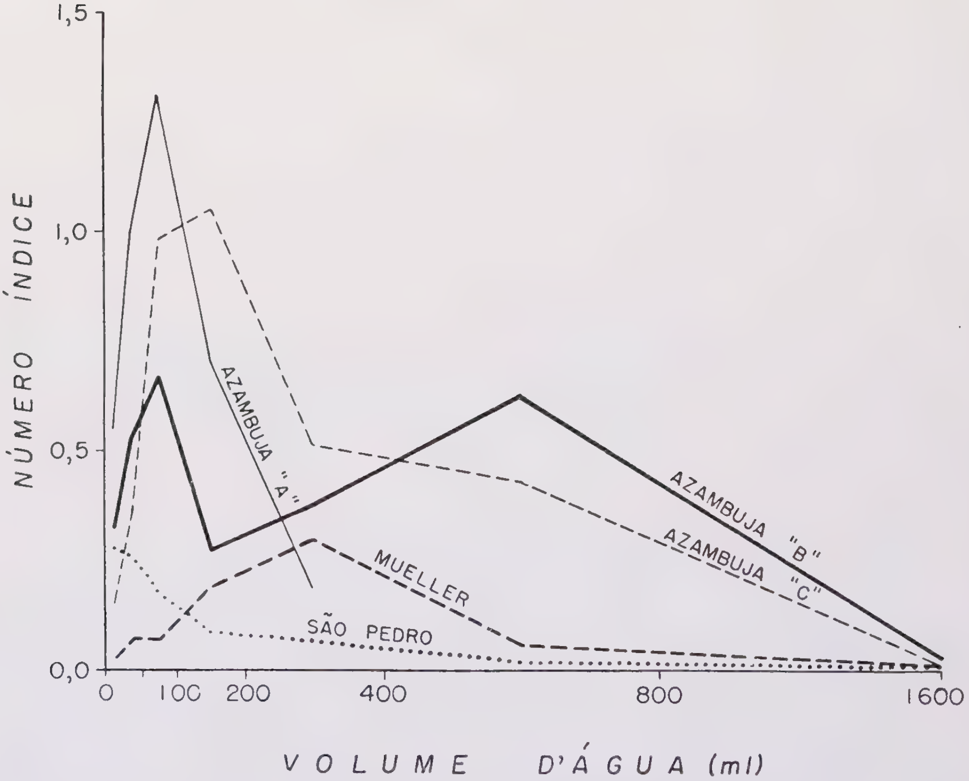


Gráfico 10-C — Distribuição do *índice MK* por volume de água.
NOTA: — O *índice MK* foi dividido por mil.

A distribuição dos diferentes índices em relação ao volume de água, mostra:

1.º) O índice de ovoposição não nos parece ser muito demonstrativo e

2.º) o *índice MK* apresenta três tipos de máximos: o primeiro em tôrno de 100ml até 200 ml (Azambuja "A", "B" e "C"), o segundo entre 200 ml e 400ml (Mueller) e o terceiro entre 400ml e 800 ml (Azambuja "B").

A mata Azambuja "C" apresenta acentuado decréscimo entre 400ml e 800ml que corresponde ao máximo de Azambuja "B".

A mata São Pedro, aparentemente, apresenta o máximo em tôrno de 25ml.

Todas estas observações demonstram a importância que o tamanho próprio a cada espécie pode ter, bem como o número de exemplares que podem inclusive inverter a importância epidemiológica da espécie na mata considerada.

9.º) *Influência do número de bromeliáceas* — Temos dito e frisado a importância que tem o número de bromeliáceas dentro de cada uma das condições examinadas. Agora queremos estudar esta influência considerada como um todo.

Procuramos, assim, calcular a *índice MK* por metro quadrado de cada uma das matas estudadas e comparar êstes com o número de bromeliáceas na unidade de área de cada uma destas comunidades, resultados que damos no quadro abaixo.

Quadro XVI

MATAS	Numero de bromeliáceas por metro quadrado	Indice MK por metros quadrado
São Pedro	0,991	367
Mueller	1,000	138
Azambuja "A"	3,540	266
Azambuja "B"	5,121	607
Azambuja "C"	7,990	1 354

Podemos dizer que, no caso da comunidade da Azambuja, o valor do *índice MK* é aproximadamente proporcional ao quadrado da metade do número de bromeliáceas. Teríamos, assim, o *MK* com uma certa função do tipo ecológico da mata e do número de bromeliáceas por unidade de área:

$$MK \cong \alpha \times \left(\frac{x}{10}\right)^2$$

$x =$ n.º de bromeliaceas por 1 000 m^2.

Comparando, em cêrca de 40 matas, os valores do índice MK (valores médios de estimativas calculadas por três vias diferentes), com os valores calculados, ùnicamente a partir do número de bromeliáceas por 1.000 m^2, podemos determinar os diferentes valores de "alfa" correspondentes a cada mata nesta fórmula que é, frisamos, de caráter empírico. Aparentemente, uma separação dos tipos de matas, de acôrdo com êstes valores de "alfa", corresponde a uma classificação fitossociológica das varias comunidades estudadas.

Será interessante verificar se esta proporcionalidade se mantém ao examinarmos um maior número de associações dos diferentes tipos, pois, se confirmada, esta proporcionalidade nos dará ensejo a avaliação grosseira, do *índice MK* e talvez uma classificação de diferentes tipos de mata pelo valor "alfa" (α).

RELAÇÃO "UMIDADE RELATIVA-KERTESZIA"

O estudo da captura de alados nos leva à conclusão preliminar que o vôo das espécies dos anofelinos do subgênero *Kerteszia* parece estar ìntimamente ligado à umidade relativa. Assim, a distribuição anual média de capturas, por unidade de tempo (30 minutos), aumenta consideràvelmente quando a umidade relativa diminui.

Por outro lado, a distribuição de capturas pelos diferentes períodos do dia também segue a mesma alternância, isto é, com a variação da umidade relativa.

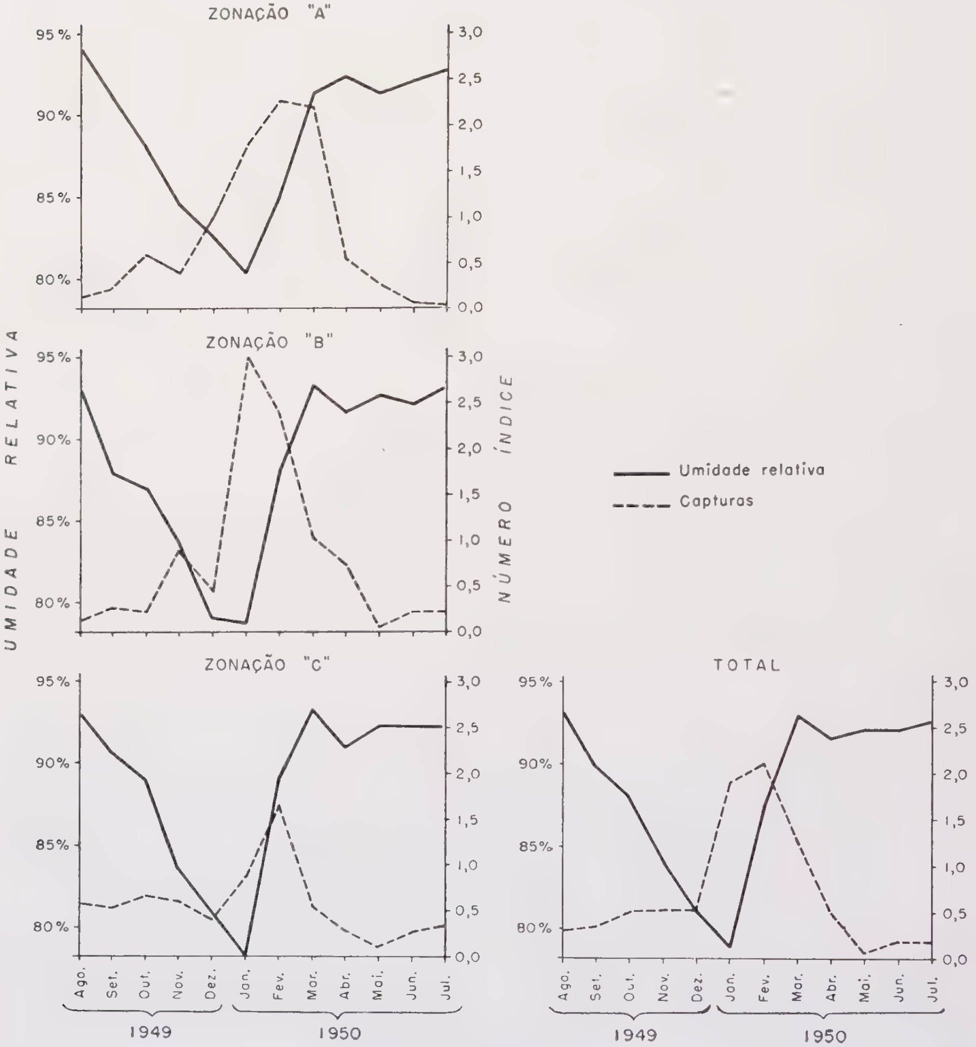


Gráfico 11 — Periodicidade das capturas em relação à unidade relativa.

NOTA: — A estreita corelação entre o índice médio de captura de alados e a unidade relativa se evidencia nestes gráficos de periodicidade.

Quadro XVII

MÉDIA DA UMIDADE RELATIVA
(período do dia)

MATAS	De 0 as 6h	De 6 as 12h	De 12 as 18h	De 18 as 24h
Azâmbuja "A"	87,5	87,0	80,0	85,3
Azambuja "B"	86,9	88,2	78,2	84,1
Azambuja "C"	88,9	86,2	79,6	86,8

Não encontramos variação significante entre solo, 1.ª e 2.ª plataformas de uma mesma zonação. Entretanto, na distribuição de capturas pelos diferentes períodos do dia, podemos notar as semelhanças das zonações "A" e "B" e suas diferenças da zonação "C".

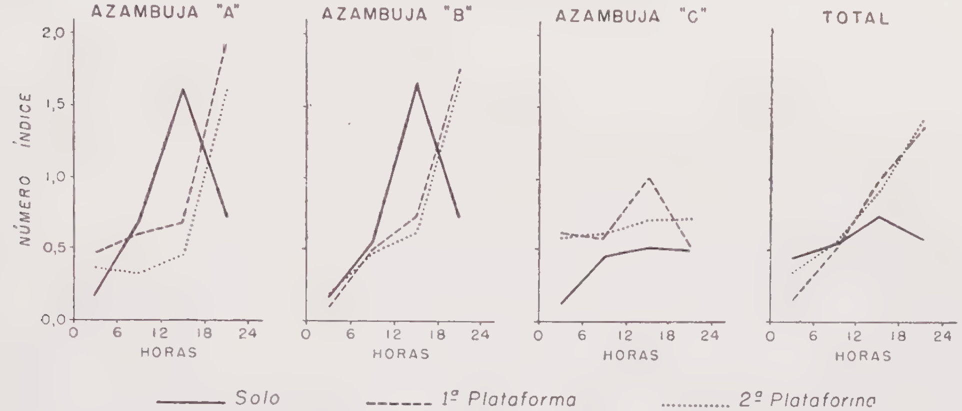


Gráfico 12 — Captura dos *Kerteszia* nos diferentes períodos do dia.

Até que ponto poderia a umidade relativa influenciar no vôo do mosquito, não sabemos. Poderíamos admitir uma hipótese que se levantou com o Dr. Mário B. de Aragão, ou seja, da condensação de vapor de água sôbre o corpo do inseto, tornando o meio impróprio e, portanto, menor a sua autonomia de vôo.

Quadro XVIII

AZAMBUJA "A"

CAPTURAS DE ALADOS DE *KERTESZIA*

DADOS	CAPTURAS POR UNIDADE DE TEMPO (30 MINUTOS) POR UMIDADE RELATIVA					
	Solo		1.ª plataforma		2.ª plataforma	
MESES 1949 a 1950	Cpturas	Umidade relativa	Capturas	Umidade relativa	Capturas	Umidade relativa
Agôsto	0,083	95	0,125	95	0,291	92
Setembro	0,333	94	0,166	90	0,222	89
Outubro	0,384	90	1,000	88	0,535	86
Novembro	0,625	87	0,312	86	0,250	86
Dezembro	1,121	85	0,853	82	1,146	81
Janeiro	2,468	82	1,781	80	1,187	79
Fevereiro	2,750	80	2,000	87	2,062	88
Março	1,457	90	3,114	93	2,000	92
Abril	0,643	92	0,642	92	0,285	93
Maio	0,156	91	0,406	91	0,218	92
Junho	0,059	92	0,088	92	0,083	92
Julho	0,027	93	0,027	93	0,055	92
Total anual (médias)	0,842	89,25	0,876	89,08	0,694	88,50

Não há variação significante tanto em relação à umidade relativa como na captura.

Quadro XVIII (continuação)

AZAMBUJA "B"

CAPTURAS DE ALADOS DE *KERTESZIA*

DADOS MESES 1949 a 1950	CAPTURAS POR UNIDADE DE TEMPO (30 MINUTOS) POR UMIDADE RELATIVA					
	Solo		1.ª plataforma		2.ª plataforma	
	Capturas	Umidade relativa	Capturas	Umidade relativa	Capturas	Umidade relativa
Agôsto	—	94	0,250	92	0,166	93
Setembro	0,333	90	0,222	88	0,278	86
Outubro	0,357	90	0,285	86	—	85
Novembro	0,562	86	1,187	83	1,000	82
Dezembro	0,500	81	0,250	78	0,600	78
Janeiro	3,187	84	3,437	78	2,437	74
Fevereiro	2,875	88	2,687	88	1,562	88
Março	1,631	93	0,842	94	0,842	93
Abril	0,143	91	0,928	92	1,143	92
Maio	—	92	0,186	93	—	93
Junho	0,278	93	0,222	92	0,166	91
Julho	0,278	94	0,222	93	0,166	92
Total anual (médias)	0,845	89,66	0,893	88,08	0,696	87,25

Não há variação significante tanto em relação à umidade relativa como na captura.

AZAMBUJA "C"

CAPTURAS DE ALADOS DE *KERTESZIA*

DADOS MESES 1949 a 1950	CAPTURAS POR UNIDADE DE TEMPO (30 MINUTOS) POR UMIDADE RELATIVA					
	Solo		1.ª plataforma		2.ª plataforma	
	Capturas	Umidade relativa	Capturas	Umidade relativa	Capturas	Umidade relativa
Agôsto	0,083	94	1,500	91	1,750	94
Setembro	0,166	92	0,647	91	0,764	89
Outubro	0,286	89	1,066	88	0,571	90
Novembro	0,875	84	0,687	82	0,250	85
Dezembro	0,350	86	0,450	79	0,450	78
Janeiro	0,812	79	0,875	76	0,937	77
Fevereiro	1,500	88	1,687	89	1,750	90
Março	0,388	92	0,444	94	0,777	94
Abril	0,286	91	0.428	91	0,143	91
Maio	0,051	91	0,062	93	0,187	93
Junho	0,111	91	0,555	92	0,176	94
Julho	0,055	92	0,666	93	0,263	92
Total anual (média)	0,414	89,08	0,755	88,25	0,668	88,91

Na umidade relativa não há variação significativa mas, nas capturas, a variação está entre 0,1 e 0,05.

CONCLUSÕES

A região de Brusque foi escolhida, para os estudos, por encerrar os diferentes tipos de matas encontradas no sul do Brasil. Nossas conclusões, é claro, são válidas apenas para as matas consideradas, procurando, todavia, estendê-las às outras, generalizando-as tanto quanto possível.

1.º) Da nossa observação podemos dizer que, atualmente, a região de Brusque é dominada por comunidades do tipo Azambuja, pois as outras, em situações topográficas mais propícias à agricultura, foram derrubadas e os poucos núcleos remanescentes estão, paulatinamente, sendo desmatados.

2.º) Quanto aos estudos fitossociológicos, podemos dizer o seguinte:

a) Foram encontradas macrofanerófitas que podem ser consideradas como espécies índices da existência de flutuações climáticas.

b) As associações delimitam nìtidamente as habitats dos anofelinos:

.) associações do tipo São Pedro e Azambuja "A" condicionam microclimas mais propícios ao *A.* (*K*) *homunculus,*
..) associações do tipo Mueller possuem microclimas propícios às três espécies do subgênero *Kerteszia* e
...) associações do tipo Azambuja "B" e "C" têm microclimas bem mais propícios ao *A.* (*K.*) *cruzii* principalmente a do último tipo.

3.º) Quanto às espécies de anofelinos do subgênero *Kerteszia,* podemos dizer o seguinte:

a) A larga dispersão geográfica das espécies *A.* (*K.*) *homunculus* e *A.* (*K*) *belator* e a área relativamente restrita que ocupa o *A.* (*K.*) *cruzii,* assim como os resultados de nossas observações nos fazem supor que, evolutivamente falando, as espécies *"homunculus cruzii"* são estreitamente ligadas, ao contrário da *"bellator",* bastante afastada.

b) Das três espécies encontradas, duas têm exigências bastante especializadas — *A.* (*K.*) *homunculus* e *A.* (*K.*) *bellator,* enquanto a outra é indiferente — *A.* (*K.*) *cruzii,* justificando, assim cremos, sua maior abundância.

4.º) Quanto aos criadouros dos anofelinos, podemos dizer o seguinte:

a) Os fatôres de maior importância para a criação de larvas e pupas são: volume de água, altura em que as bromeliáceas se acham fixadas e o seu número total, sendo que a altura dos biótopos é fundamental para a distribuição das espécies, não só de bromeliáceas como também de *Kerteszia*.

b) Outros fatôres, tais como: sociabilidade, situação, tolerância (luminosidade), etc., ou são de importância secundária ou apenas decorrentes dos primeiros.

5.º) Quanto às capturas dos alados das três espécies do subgênero *Kerteszia,* podemos dizer o seguinte:

a) Que o vôo, de maneira geral, está ìntimamente ligado à umidade relativa.

b) Que nas associações "A" e "B" existe, aparentemente, uma identidade microclimática na autonomia de vôo e, na zonação "C", as diferenças microclimáticas se refletem na divergência da altura de vôo.

c) Que os máximos de capturas variam, nas alturas de vôo, com as horas do dia.

Com a finalidade de esclarecer, tanto quanto possível, o problema "Kerteszia-malária", propomos se estude com maior profundidade o seguinte:

1.º) As razões do máximo do índice larvário residir entre 25 e 100 ml para *A* (*K.*) *homunculus,* 100 e 400 ml para *A* (*K.*) *cruzii* e 400 até 1600 ml para *A* (*K.*) *bellator*.

2.º) Autonomia de vôo das três espécies do subgênero *Kerteszia.*

3.) Estudo mais apurado das distinções e semelhanças entre as espécies *A*. (*K.*) *homunculus* e *A*. (*K.*) *cruzii* para o estabelecimento da filogenia.

4.º) Estudo da relação número de bromeliáceas por *índice MK*.

5.º) Estudo aerofotogramétrico da região Sul para distribuição geográfica dos diferentes tipos de matas.

6.) Verificação do índice domiciliar das espécies *A*. (*K.*) *homunculus* e *A*. (*K.*) *cruzii* que, a nosso ver, ainda não foi bem esclarecido.

Para o contrôle da malária propomos os itens seguintes:

1.º) Medidas profiláticas:

a) Destruição total das bromeliáceas situadas nas associações do tipo Azambuja "C".

b) Destruição das bromeliáceas até 5 metros de altura nas associações do tipo São Pedro.

c) Destruição das bromeliáceas até 15 metros de altura nas associações do tipo Azambuja "A", "B" e Mueller.

2.º) Método de combate:

a) Aplicação (polvilhamento) do verde-paris por intermédio de aviões nas matas do tipo Azambuja "C".

b) Polvilhamento manual dos criadouros pelo verde-paris nas associações do tipo São Pedro.

c) Derrubada dos indivíduos velhos das espécies *Ficus subtriplinervia, Alchornea triplinervia,* etc., preferidas pelas epífitas, e polvilhamento manual, pelo verde-paris, dos criadouros situados a menos de 5 metros de altura nas associações do tipo Azambuja "A", "B" e Mueller.

NOTA — Estas medidas poderão ser tomadas isoladamente, segundo a conveniência de cada caso, ou em conjunto.

SUMMARY

The present work is part of the studies realized under the authority of the National Service of Malaria (Brazil), with the collaboration of scientists of the Oswaldo Cruz Institute, in some forests of the southern part of Brazil.

This is the first of a series and its subject is the development of the *Anopheles* mosquitoes of the *Kerteszia* in water collected in *Bromeliaceae* leaves.

The ecology of *Bromeliaceae* was studied in a previous work.

The botanical material was classified by specialists from several botanical institutions from Europe and the United States of America.

The most important ecological relations of the "bromeliad-kerteszia" problem were presented through four indices:

1st *Positivity index* — Relative frequency of bromeliad with watery forms in the bromeliad examined.

2nd *Larval index* — Mean number of watery forms in the positive bromeliad.

3rd *Ovoposition index* — Product of the Positivy index by the Larval index.

4th *MK index* — Product of the Ovoposition index by the total number of bromeliad, positive or not, in a unity of area (1.000 m^2).

The capture of flying forms in relation to the relative humidity was also studied.

From the several forests of the Brusque region we have selected one community of each type, which were the most representative forests in Southern Brazil.

Conclusions on the "bromeliad-kerteszia" problem — From a general point of view only a few factors are really important and these are listed below:

1.º) The volum of water on the bromeliad.
2.º) The level where the bromeliad is fixed.
3.º) The number of bromeliad in unity of area.

The distribution of microclimas in the forest through the considered levels has a direct influence on the species of subgenus *Kerteszia* (qualitative influence) and an indirect influence through the ecological distribution of the more frequent bromeliad with best qualities as biotope for the watery forms (qualitative influence).

The *MK* index is roughly proportional to the square of half the total number of *Bromeliaceae* in a certain type of forest. Then the *MK* index would be a certain function of the ecological type of the forest and of the total number of bromeliad in a unity of area.

$$MK \simeq \alpha \times \left(\frac{x}{10}\right)^2$$

x = n.º of bromeliad in a unity of area (1.000 m^2)
α = qualitative factor.

It would be interesting to see if this proportion is maintained when we have examined a greater number of forests of different types.

GENERAL CONCLUSIONS

1.º) The Azambuja type is dominant in the Brusque region.
2.º) The communities of São Pedro and Azambuja "A" types have microclimas favourable to the *A.* (*K.*) *homunculus* Komp.
3.º) The communities of the Mueller type have microclimas favourable to the three considered species of *Anopheles* of sub-genus *Kerteszia.*
4.º) The communities of the Azambuja "B" and "C" types have microclimas favourable to the species *A.* (*K.*) *cruzii* Dyar & Knab.
5.º) The wide geographical dispertion of the species *A.* (*K.*) *hommunculus* Komp. and *A.* (*K.*) *bellator* Dyar & Knab. and the relatively little dispersion of the specie *A.* (*K.*) *cruzii* Dyar & Knab., as well as the results of our observations, make it clear that the *homunculus* and *cruzii* species are related (philogenetically speaking). On the other hand the *bellator* species is situated far from the others.
6.º) There is a relation between the captures in a unity of time and the relative humidity.

ZUSAMMENFASSUNG.

Die vorliegende Arbeit bildet einen Teil der Studien, die unter Leitung des nationalen Malaria-Dienstes in Zusammenarbeit mit Technikern des Institutes Oswaldo Cruz im Sueden Brasiliens durchgefuehrt werden und sich mit dem Problem des Wechselspiels zwischen Malaria und Bromeliacen befassen.

Die Verfasser bearbeiten in dieser Niederschrift, die den Anfang einer Serie ueber die erwaehnten Fragen darstellt, die Entwicklung der Anophelinen der Untergattung Kerteszia in den Wasseransammlungen der Blattwinkel von Bromelien.

Es wurde das Munizip Brusque ausgewaehlt, da hier die Abhaengigkeit der Bevoelkerung vom Wald eine sehr enge ist und da dieses Gebiet fuer die Oekologie und Topographie der Suedregion charakteristisch ist. Den hier gefundenen Wald nennen die Autoren die "Suedbrasilianische Regenformation".

Vor der Ankunft der Arbeitsgruppe wurden die folgenden Methoden zur Bekaempfung der Brutstaetten der Malariauebertraeger angewendet:

1. Manuelle Entfernung der Bromelien aus den die Staedte umgebenden Waeldern,
2. Abholzung.

Da diese beiden Methoden zu drastisch sind, benutzten die erwaehnten Techniker anfangs eine 0,5% ige Loesung von Kupfersulfat als "Bromelicid" und spaeter Pariser Gruen, das vom Flugzeug aus verstaeubt wurde.

Um ueberfluessige Schaeden an den Pflanzengesellschaften zu vermeiden, wurde daran gedacht, auf Grund oekologischer Betrachtungen das Problem *"Bromeliaceae-Malaria"* nach dem Vorbild *Pittendrigh's* in Trinidad zu loesen.

Es wurde folgender Arbeitsplan durchgefuehrt:

1. Studium der Vergesellschaftungen im Hinblick auf die Soziologie und ihre Beziehungen zu den Bromelien,
2. Auszaehlung der in den Bromelien enthaltenen Larven und Puppen,
3. Kenntnis des Mittelwertes der Larven, die sich zu Imagines entwickeln und
4. Mikroklima der Waelder usw.

Die Oekologie der Bromelien wurde in einer frueheren Publikation veroeffentlicht (*Veloso*, H. P., 1952).

Das botanische Material der vorliegenden Arbeit wurde von Spezialisten verschiedener Laender der Welt klassifiziert.

METHODEN.

Die Aussenarbeiten erstreckten sich ueber 12 Monate (ein Jahreszyklus) und setzten sich zusammen aus:

A) Untersuchung der Larvenstadien:

Ein Hilfsoekologe mit einigen Arbeitern fuehrten die Feldarbeiten durch; die gesammelten Larven wurden fuer die spaetere Bestimmung im Labor gezuechtet.

Die phytosoziologischen Erhebungen wurden in allen bearbeiteten Waldtypen durch gefuehrt. Die Studien der Kleinstflaechen, Haeufigkeit und Dichte usw. wurden im Waldtyp *Hoffmann* vorgenommen mit der ausschliesslichen Absicht, eine allgemeine Kenntnis der charakteristischen Arten der Region zu erhalten.

Die Feldbeobachtungen wurden zur spaetern statistischen Analyse auf Karteikarten Typ *MacBEE-Keysert-Mod. 49* aufgenommen.

Es werden zwei neue Ausdruecke vorgeschlagen zur Bezeichnung der *Palmaceae* und *Ciataceae*, da diese beiden gegensaetzliche oekologische Funktionen der Phanerophyten ausueben: *"Palma-phanerophytae"* und *"Ciatea-pteridophytae"*.

B) Statistische Analyse:

Nach verschiedenen Versuchen wurde der Test "t" zur Bestaetigung der Bestaendigkeit der erhaltenen Punkte angewendet und zahlreiche Mittelwerte errechnet wie auch Fehlerquellen beruecksichtigt. Die Daten wurden aus 4 verschiedenen Hauptwerten ermittelt:

1. *Positivitaets-Index*: Relative Haeufigkeit der Bromelien mit Larven und Puppen im Verhaeltnis zur Gesamtzahl der geprueften Brutstaetten.
2. *Larven-Index*: Mittelwert von Larven und Puppen in positiv gefundenen Bromelien, fuer jeden einzelnen Fall betrachtet.
3. *Eiablage-Index*: Erhalten aus dem Produkt: Positivitaets-Index x Larven-Index.

4. *MK-Index*: Darstellung des epidemiologischen Wertes der Brutstaetten unter verschiedenen Gesichtspunkten; er stellt das Produkt aus dem Eiablage-Index und der Gesamtzahl der positiven und negativen Bromelien je Flaecheneinheit dar, wiederum fuer jeden einzelnen Fall betrachtet. Der *MK-Index*, benannt nach den Anfangsbuchstaben des Ausdruckes "Malaria-Kerteszia", zeigt den wahren epidemiologischen Wert fuer die vorliegenden Fragen an.

C) Fang der Imagines und Flughoehe der *Kerteszia*-Arten.

Es war wuenschenswert die Flughoehe der fraglichen Anophelinen-Arten zu ermitteln, hierzu wurde eine Mannschaft von 6 Faengern zusammengestellt, von denen 2 als Reserve dienten. Sie wurden mit Psychometern und Chronometern versehen. Am Dienstag jeder Woche, wie vorher ausgelost war, wurden waehrend 12 sich folgender Monate in den drei Zonen des Azambuja-Waldes in drei verschiedenen Hoehen die Muecken gefangen. Es wurden vier Baumposten eingerichtet, davon zwei in der Zone *"A"* (einer auf feuchtem, der andere auf mehr trockenem Gelaende), weiter je ein Posten in den Zonen *"B"* und *"C"*.

Jeder Mann fing waehrend sechs sich folgender Stunden, davon 30 Minuten in jeder Hoehe des Postens. Der erste Fang erfolgte am Boden, die anderen beiden auf einer Plattform in 7-9 m und einer anderen in 12-15 m Hoehe.

Die Dauer des Fanges erstreckte sich ueber 24 Stunden und jeder Mann arbeitete in allen drei Hoehen seines Baumpostens.

GEMEINSCHAFTEN.

Aus den verschiedenen Waldtypen des Munizips *Brusque* wurden die Gemeinschaften ausgesucht, die die Typen der Gesellschaften Suedbrasiliens darstelln, soweit sie eine Bedeutung fuer das vorliegende Problem besitzen.

Gemeinschaft *São Pedro*: Umfasst 55 000 m^2 und liegt auf der Talsohle eines kleinen offenen Tales; das Gelaende ist feucht mit behindertem Abfluss. Es wurde ein Quadrat von 4 096 m^2 fesgelegt, wo etwa 4 000 Exemplare von Bromelien ausgemessen wurden. Untersucht wurden 7 096 Brutstaetten von 14 Bromelienarten. Ein Quadrat von 1 024 m^2 wurde in 64 von 16 m^2 jeweils unterteilt, aus denen Schlussfolgerungen gezogen wurden, insbesondere solche, die sich auf den Ersatz der erwachsenen Arten durch andere in der Gemeinschaft beziehen, dieses in Abhaengigkeit von lokalen Feuchtigkeitsaenderungen.

Gemeinschaft *Mueller*: In einem der noch erhaltenen grossen Waldgebiete am Ufer des Flusses Itajaí-mirim wurde das Untersuchungsgebiet dieses Typs errichtet, das eine Flaeche von 36 000 m^2 bedeckt. In aehnlichen Unterteilungen wie in der Gemeinschaft São Pedro wurden 2 154 Brutstaetten von 12 verschiedenen Bromelien-Arten untersucht. Es ist ein periodisch ueberschwemmtes Gebiet mit guenstigem Wasserabfluss.

Gemeinschaft *Azambuja*: In einem Waldgebiet, das sich in einem geschlossenen Tal mit Steilhaengen ueber 130 000 m^2 ausdehnt, wurden drei Arbeitszonen festgelegt, von denen eine, Zone "A", die tiefst gelegene mit dem feuchtesten Gelaende darstellt. Die Zone "B" liegt am Hang, die Zone "C" auf der Hoehe eines Huegels. Es wurde so verfahren, da einerseits der Einflus der Lichtintensitaet auf die vertikale Verteilung der Bromelien nachgewiesen war und da andererseits mikroklimatische Unterschiede vorhanden sind.

Wie gesagt wurde das Quadrat der Zone "C" auf der Hoehe einer Gelaendewelle unter denselben Bedingungen wie in den anderen Waldgebieten abgesteckt. In dieser Vergesellschaftung herrschen spezielle Bodenbedingungen und ein von den anderen Zonen verschiedenes Mikroklima auf Grund der starken Sonneneinstrahlung. Die Bromelien bilden mit ihrer grossen Mehreit einen wahren Teppich auf dem Humus des Bodens.

BEZIEHUNG "BROMELIACEAE-KERTESZIA"

Im allgemeinen koennen wir sagen, dass es nur einige wenige wirklich ausschlaggebende Einfluesse gibt, von denen wir das Wasservolumen wie auch die Hoehe, in der die Bromelien sich an den Baeumen befinden, besonders hervorheben.

1. Hoehe der Biotope: von diesem Faktor haengen verschiedene andere in einer komplexen Weise ab, von denen einige nicht leicht fest zu umreissen sind. So haengt die Beleuchtungssintensitaet eng von der Hoehe ab; die Menge des vegetabilischen Detritus, der auf die Grundflaecheneinheit faellt kann mit der Untersuchungshoehe sich aendern, so dass unterschiedliche Konzentrationen von organischem und mineralischem Material entstehen, die zur Verbesserung oder Verschleterung der Lebensbedingungen des Plaktons im Wasser der Blattscheiden der Bromelien fuehren, so dass bessere oder schlechtere Brutstaetten fuer die Larven entstehen.

Die moegliche Verteilung von Mikroklimaten innerhalb des Waldes auf die verschiedenen beobachteten Hoehen beeinflusst nicht nur direkt die Anophelinen-Arten der Untergattung *Kesteszia* (qualitativer Einfluss), sondern auch indirekt die Oekologie und Verteilung der Bromelien und die bessere Kennzeichnung der Larvenbrutstaetten (quantitativer Einfluss).

Das genaue Studium der Verteilung der Biotope in Bezug auf die Hoehe kann uns ein allgemeines Bild all dieser Faktoren geben. Ein solches glauben wir nachgewiessen zu haben fuer die Verteilung der Bromelien mit dem groesseren Index bezueglich ihrer vertikalen Lage wie auch fuer die Verteilung des *MK-Index* fuer jede der drei *Kerteszia-Arten,* die in den verschiedenen Hoehen untersucht wurden.

2. Menge des Wassers je Biotop: Wir fanden, dass die Positivitaet mit der Wassermenge ansteigt; der Larven-Index zeigt jedoch sein Maximum zwischen 50 und 200 m^3.

Ausser diesen Faktoren koennen wir den Einfluss der Bromelien in ihrer Gesamtheit studieren. So suchten wir den *MK-Index* je Quadratmeter in jedem der bearbeiteten Waldtypen zu berechnen und verglichen diesen mit der Anzahl der Bromelien je Flaecheneinheit jeder Gemeinschaft.

Wir koennen sagen, dass im Fall der Gemeinschaft *Azambuja* der Wert des *MK-Index* etwa proportional dem Quadrat der Haelfte der Anzahl der Bromelien ist. So erhalten wir fuer *MK* eine gewisse Funktion zwischen dem oekologischen Typ des Waldes und der Anzahl der Bromelien je Flaecheneinheit:

$$\mathrm{MK} \cong \alpha \times \left(\frac{x}{10}\right)^2$$

x = Anzahl der Bromelien je Flächeneinheit (1 000 m^2).
α = qualitativer Faktor.

Es waere interessant nachzuweisen, ob diese Proportion auch fuer eine groessere Anzahl von Vergesellschaftungen der verschiedensten Typen gilt, denn, wenn es sich bewarheitet, gibt uns diese Proportion die Moeglichkeit einer groben Schaetzung des MK-Index eines bestimmten Waldtyps, was von grossem praktischen Wert ist.

FOLGERUNGEN.

Die Autoren teilen mit, dass:

1. Entsprechend den persoenlichen Beobachtungen, die Gegend von *Brusque* heute von der Gemeinschaft des Typs *Azambuja* beherrscht wird, denn die anderen Typen wurden wegen ihrer fuer den Ackerbau guenstigen Lage zerstoert und die wenigen Restbestaende werden mit der Zeit abgeholzt.

2. Bezueglich der phytosoziologischen Beobachtungen ergab sich folgendes:
   a) Es wurden Makrophanephyten gefunden, die als Leitformen fuer das Vorhandensein klimatischer Veraenderungen gelten koennen.
   b) Es wurden Vergesellschaftungen nachgewiesen, auf die sich die Wohnbezirke der Anophelinen beschraenken:
      .) Gesellschaften vom Typ *São Pedro* und *Azambua "A"* bedingen ein fuer *A.* (*K.*) *homunculus* Komp. guenstiges Mikroklima.
      ..) Gesellschaften vom Typ Mueller besitzen ein Mikroklima, das geeignet fuer alle drei bearbeiteten Arten der Untergattung *Kerteszia* ist.
      ...) Gesellschaften vom Typ *Azambuja "B"* und *"C"* zeigen ein Mikroklima, das guenstig fuer *A.* (*K.*) *cruzii* Dyar & Knab. ist, besonders der letztere Typ.
3. Bezueglich der Anophelinen-Arten der Untergattung *Kerteszia* wird folgendes festgestellt:
   a) Die geographische Streubreite der Arten *homunculus* und *bellator* und das relativ begrenzte Gebiet, das von *cruzii* eingenommen wird, wie auch die Beobachtungsresultate lassen vermuten, dass entwicklungsgeschichtlich gesehen die Arten *homunculus* und *cruzii* eng zummengehoeren, waehrend *bellator* von ihnen entfernt steht.
   b) Von den drei gefundenen Arten besitzen zwei (*homunculus* und *bellator*) ausreichende Kennzeichen, waehrend die andere (*cruzii*) indifferent ist, so dass die Autoren schliessen, dass der Befund voellig die grosse Dichte der letzteren Art in der Gegend erklaert.
4. Bezueglich der Brutstaetten (Bromelien) der Anophelinen wird folgendes geschlossen:
   a) Die Hauptfaktoren fuer die Entwickung der Larven und Puppen sind folgende: Wasservolumen, Hoehe der Bromelien an den Baeumen und die Gesamtanzahl der Biotope auf der Flaecheneinheit. Die Autoren betrachten die Hoehen der Brutstaetten als Grundlage fuer die Verteilung der Anophelinen- und Bromelien-Arten.
   b) Andere Faktoren wie Vergesellschaftung, Lage, Toleranz, (Belichtung) usw. besitzen sekundaere Bedeutung oder sind nur abhaengig von den erst genannten.
5. In Bezug auf die gefangenen Imagines wird geschlossen:
   a) dass der Flug im allgemeinen gesehen eng von der relativen Feuchtigkeit abhaengt;
   b) dass in den beiden Gesellschaften *"A"* und *"B"* des Typs *Azambuja* sich offenbar eine mikroklimatisch bedingte Gleichheit in Bezug auf die Flugweite feststellen laesst, waehrend sich in der Zone "B" desselben Typs die mikroklimatischen Unterschiede auf die verschiedenen Flughoehen auswirken;
   c) dass die Maxima des Fanges in den Flughoehen mit den Tagesstunden schwanken.

Um das Problem "Malaria-Kerteszia" so weit wie moeglich zu Klaeren, werden fuer ein tiefer greifendes Studium folgende Punkte vorgeschlagen:

1. Die Gruende, warum das Maximum des Larven-Index zwischen 100 und 400 cm^3 liegt.
2. Flugweite der drei Arten innerhalb und ausserhalb des Waldes.
3. Genaues Studium der Unterscheidung der Arten *homunculus* und *cruzii,* um die phylogenetische Zusammengehoerigkeit zu klaeren.
4. Studium der Beziehung zwischen Anzahl der Bromelien und MK-Index.
5. Ein flaechenphotogrammetrisches Studium der Suedzone Brasiliens bezueglich der geographischen Verbreitung der verschiedenen Waldtypen.
6. Nachweiss des Wohnindex der Arten *homunculus* und *cruzii,* der nach Meinung der Autoren noch nicht einwandfrei geklaert ist.

Fuer die Kontrolle der Malaria wird folgendes vorgeschlagen:

1. Prophylaktische Massnahmen:
   - *a*) Vernichtung der Bromelien der Gesellschaft des Typs *Azambuja C.*
   - *b*) Vernichtung der Bromelien bis zur Hoehe von 5 m in der Gesellschaft *São Pedro*.
   - *c*) Vernichtung der Bromelien bis zur Hoehe von 15 m in den Gesellschaften der Typen *Azambuja "A"* und *"B"* und *Mueller*.
2. Bekaempfungsmethoden.
   - *a*) Verstaeuben von Pariser Gruen durch Flugseuge in den Waeldern des Typs *Azambuja "C"*.
   - *b*) Manuelle Bestaeubung der Brutstaetten mit Pariser Gruen in den Gesellschaften des Typs *São Pedro*.
   - *c*) Abholzung der Exemplare von *Ficus subtriplinervia, F. anthelminthica, Alchornea triplinervia* usw., die die Haupttraeger der Epiphyten sind, und manuelle Bestaeubung der Brutstaetten bis zu 5 m Hoehe n den Gesellschaften der Typen *Azambuja "A"* und *"B"* und *Mueller* mit Pariser Gruen.

Bemerkung: Die genannten Massnahmen koennen einzeln ents prechend der Notwendigkeit in jedem gegebenen Fall oder gleichzeitig durchgefuehrt werden.

BIBLIOGRAFIA

ARAGÃO, MARIO B. 1952
Aplicação do verde-paris como bromelicida. Rev. Brasil. Malariol. *4* (4): 385-388.

BATES, MARSTON
The natural history of mosquitoes.
The Macmillan Comp. New York 1949.

CORRÊA, RENATO R. 1943.
Da infecção natural pela plasmoidiose malárica do *Anopheles* (*Kerteszia*) *cruzii* D., K., Folia Clim. et Biol., *15* (1): 23-32.

COUTINHO, J. O., RACHOU, R. G. e RICCIARDI, I. 1943
Contribuição para o conhecimento dos transmissores de malária no Brasil — *A.* (*K.*) *cruzii* e *A.* (*K.*) *bellator*. Arq. de Higiene *13* (3): 115-127.

COUTINHO, J. O., e RACHOU, R.G. 1945
Dados sôbre a biologia e a capacidade vetora de Malária dos anofelinos do subgênero *Kerteszia* em condições naturais. Arq. de Higiene *15* (4).

DAVIS, DAVID. E. 1945
The annual cycle of plants, mosquitoes, birds, and mammals in two brazilian forests. Ecol. Monogr. *15* (3): 243-296.

DAVIS, NELSON C. 1926
A field study of mountain malaria in Brazil. Am. Journ. Hyg. 6 (1): 119-138.

DOWNS, W. G. and PITTENDRIGH, C. S. 1946
Bromeliae Malaria in Trinidad — British West Indies. Amer. Journ. Trop. Med., *26* (1): 47-66.

DOWNS, W. G., GILLETTE, H. P. S., and SHANNON, R. C. 1943
A malaria survey of Trinidad and Tobago. Suppl. Journ. Nat. Malaria Soc. *2*: 5-44.

KORSTIAN, C. F. and COILE, T. S. 1938
Plant competition in forest stands.
Duke University School of Forestry *Bulletin 3*.

LUTZ, ADOLPHO. 1950
Mosquitos da floresta e malária silvestre. Rev. Brasil. Malariol. 2 (2): 91-99. Trad. Waldmosquitos und Waldmalária, 1903 Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infekh. 33 (4): 282-292.

MAACK, REINHARD. 1940
Exploraão geográfica e geológica em Santa Catarina (Brasil). *Dep. Nac. Prod. Min.*

MAACK, REINHARD. 1947
Breves notícias sôbre a Geologia dos estados do Paraná e Santa Catarina. Arq. Biol. Tec. Inst. Biol. Pesq. Tec. *Vol. II.*

PERYASSU, A. G. 1929
Plantas como criadouros de larvas de mosquitos. Arch. Hyg. *3* (2): 279-282.

PICADO, C. 1913
Les Bromeliacees epiphytes considérées come milieu biologique. Bul. Scientif. France e Belgique, *47*: 215-360

PINOTTI, MARIO 1949
O problema da malária transmitida por Kerteszia no sul do Brasil. Rev. Brasil. Malariol. *1* (1): 2.

PITTENDRIGH, C. S. 1950
The quantitative evaluation of Kerteszia breeding grounds. Amer. Journ. Trop. Med. *30* (3): 457-468.

1948 The Bromeliad-Anopheles-Malaria Complex in Trinidad. I — The Bromeliad Flora. Evol. *2*: 58-89.

RACHOU, R.G. 1946
Da infectibilidade dos anofelinos do subgênero *Kerteszia* pelos parasitos da malária humana. Folha Med. *27* (23): 1-10.

1952 Sôbre o combate aos anofelinos do subgênero *Kerteszia* no litoral Paranaense. Rev. Brasil. Malariol. *4* (3): 245-254.

RACHOU, R. G., RICCIARDI, I. e LUZ, ENIO 1949
Dispersão ativa e passiva dos anofelinos do subgênero *Kerteszia* no litoral Paranaense. Rev. Brasil. Malariol. *1* (3): 211-218.

RACHOU, R. G., MARTINS, J. S. e GUEDES, Z. S. 1949
Anofelimetria em Cacupé Pequeno como trabalho preliminar à aplicação de D.D.T. por helicóptero. Rev. Brasil. Malariol. *1* (3): 34-195.

RACHOU, R. G. e FERREIRA, M. DE O. 1946
Algumas observações sôbre o índice de anofelinos do subgênero *Kerteszia* em bromeliáceas e sua densidade larvária no sul do Brasil. Folha Med. *27* (20): 1-9.

ROZEBOOM, L. E. and LAIRD, R. L. 1942
Anopheles (Kerteszia) bellator Dyar and Knab. as a vector malaria in Trinidad, British West Indies. Amer. Jour. Trop. Med. *22* (1): 83-91.

SMITH, L. B. 1934
Geographical evidence on the lines of evolution in the Bromeliaceae. Bot. Jahr. *66*: 446-468.

VELOSO, H. P. 1951
Resultados preliminares sôbre sulfato de cobre em São Francisco, Estado de Santa Catarina. Rev. Brasil. Malariol. *3* (3): 522-524.

1952 O problema ecológico Vegetação-Bromeliáceas-Anofelinos. I) A presença relativa das formas aquáticas do *A.* (*Kerteszia*) spp. como índice de positividade das espécies de bromeliáceas. An. Bot. H.B.K. *4* (4): 187--270.

VELOSO, H. P. e CALÁBRIA, P. V. 1953
O problema ecológico Vegetação-Bromeliáceas-Anofelinos. II) Avaliação quantitativa dos criadouros e das formas aquáticas dos anofelinos do subgênero *Kerteszia* nos principais tipos de vegetação do município de Brusque, estado de Santa Catarina. An. Bot. H.B.R. *5* (5): 7-36.

Notas sôbre o *Pneumocystis carinii* Raridade atual dêste parasito em animais de laboratório[*]

A. Sotero Cabral
Instituto Oswaldo Cruz

(Com 1 figura no texto)

Em princípios de 1954, o professor Henrique de Beaurepaire Aragão, a quem a ciência e especialmente o Instituto Oswaldo Cruz muito devem, e a quem se está homenageando, dedicando-lhe êste número das Memórias, recebeu pedido do Dr. David Weinman, da Yale University, no sentido de que lhe fôssem remetidas preparações contendo *Pneumocystis carinii*. Não tendo de imediato as preparações para a remessa, deu início a exame microscópico de esfregaços de pulmão de vários roedores e fê-lo convencido de que o acharia sem dificuldade, considerando que 42 anos antes, em 1913, havia encontrado o parasito em cêrca de uma quarta parte dos animais examinados (1). Desde o comêço de 1954 até julho dêsse ano havia examinado pulmões de mais de cem roedores, com resultados negativos. Os roedores examinados foram cobaias, ratos de laboratório, ratos de esgôto e coelho doméstico.

Em julho de 1954, o autor destas notas viajou para São Paulo, designado pela Direção do Instituto Oswaldo Cruz para lá verificar a organização dos biotérios em instituições científicas.

Considerando a oportunidade dêsse estágio na Capital Paulista, o prof. Aragão solicitou-nos que o aproveitássemos para procurar o *Pneumocystis carinii*. Examinamos esfregaços de pulmão em 200 animais, entre cobaias, coelhos e ratos brancos, em laboratórios do Instituto Biológico, Instituto Pinheiros e Instituto Butantã, chefiados, respectivamente, pelos Doutores Paulo C. Nóbrega, Aníbal Augusto Pereira e professor Flávio da Fonseca, aos quais deixamos consignados aqui o nosso agradecimento pela atenção e pelas facilidades dispensadas. O prof. Flávio da Fonseca, a convite do prof. Aragão, também vinha examinando pulmão de roedores criados no Instituto Butantã, igualmente

---

[*] Entregue para publicação a 15 de Outubro de 1955.

com resultados negativos. Na antevéspera do nosso regresso ao Rio, em setembro de 1954, trabalhando no laboratório do prof. FÁVIO DA FONSECA, tivemos a sorte de achar um caso positivo em pulmão de cobaia encontrada morta entre as cobaias da criação do Instituto Butantã. Fizemos várias lâminas e tivemos assim a satisfação de trazer para o prof. ARAGÃO as preparações que lhe permitiram remeter o parasito ao Dr. WEINMAN.

De volta ao Rio de Janeiro e tendo nosso interêsse sido despertado para outra face do assunto, recomeçamos o exame em animais encontrados mortos no biotério do Instituto Oswaldo Cruz. E houve a coincidência de que o *Pneumocystis carinii* foi encontrado logo na primeira cobaia examinada. Sugeriu o prof. ARAGÃO que investigássemos a origem dessa cobaia: se nascida no Instituto Oswaldo Cruz ou se adquirida, detalhe êste que não nos foi possível verificar porque fazia ela parte de animais encontrados mortos nas várias cobaieiras e reunidos em lote, no qual haviam sido misturadas cobaias criadas no Instituto com outras compradas. O prof. ARAGÃO, em 1954, tinha examinado cobaias por êle sacrificadas, tôdas da criação do Instituto. De setembro de 1954 a setembro de 1955, examinamos pulmão de 215 cobaias, na sua grande maioria nascidas no Instituto Oswaldo Cruz e encontramos mais dois casos positivos, em animais comprados, casos êsses diagnosticados em setembro e outubro de 1954. Durante o período de setembro de 1954 a setembro de 1955, examinamos esfregaços de pulmão de coelho doméstico, coelho do mato, cão, rato de esgôto, rato branco e quati, totalizando 551 animais. Dêstes, 301 consistiam em ratos de esgôto, entre os quais foram diagnosticados dois casos positivos em fins de agôsto de 1955. Os ratos de esgôto eram do serviço rotineiro de capturas mantido pelo Serviço Nacional de Peste. Em 20 coelhos domésticos examinados, achamos um caso positivo em setembro de 1955.

Do exposto, pode concluir-se que é baixa a incidência atual de *Pneumocystis carinii,* quando comparada com a que foi investigada por ARAGÃO (1) em 1913 e que, então, atingia a cêrca de 25% do total de animais examinados; nós encontramos sòmente sete casos positivos num total de 951 animais, ou seja, apenas 0,7 por cento. Neste total, estão incluídos os examinados pelos professôres HENRIQUE ARAGÃO e FLÁVIO DA FONSECA.

A pesquisa feita por nós consistiu em exames de pequena porção retirada de uma parte qualquer do pulmão, passada sôbre papel de filtro, colocada em seguida sôbre uma lâmina de microscópio e triturada com tesoura de ponta fina até formação de massa homogênea; a massa era espalhada sôbre a lâmina, formando camada relativamente espêssa, secada ao ar ambiente, fixada em álcool absoluto ou metílico e corada por Giemsa forte: três gôtas por centímetro cúbico de água destilada. O exame microscópico se prolongava até dez a doze minutos, depois do que era considerado negativo.

O ainda pouco conhecido *Pneumocystis carinii* tem história interessante. Não se sabe se é um protozoário ou um cogumelo, estando, portanto, sem classificação definitiva na sistemática. CARLOS CHAGAS (2), estudando experimentalmente em cobaia a doença que tem o seu nome, foi quem primeiro notou a existência do parasito, considerando-o, porém, como fazendo parte do ciclo do *Trypanosoma cruzi* por êle descrita como sendo uma forma de esquizogonia do tripanosoma e que se verificava no pulmão. CARINI (3), encontrando o cisto em ratos infectados com o *Trypanosoma lewisi*, acreditou que fazia parte, também, do ciclo dêsse protozoário. GASPAR VIANA (4, 5, 6), encontrando-o em animais onde estudava os *Trypanosoma gambiense, T. equinum, T. congolense* e *T. equiperdum*, julgou-o como constituindo o que era a forma de esquizogonia referida por CHAGAS a respeito do *Trypanosoma cruzi*. Varios outros autores afirmavam ser verdade, ainda, para outros tripanosomas, objeto de seus estudos, a existência dessa suposta esquizogonia. STEPHENSON (7) referiu-se ao cisto como fazendo parte do ciclo esquizogônico de *Klossiellas*. Coube, finalmente, ao casal DELANÖE (8) demonstrar que o parasito nada tinha com o ciclo dos protozoários acima citados, constituindo uma entidade à parte e dando-lhe o nome de *Pneumocystis carinii*. A descoberta feita pelo casal DELANÖE foi logo confirmada por ARAGÃO, por CHAGAS — que fêz revisão do que antes havia afirmado — e por GUERREIRO e MACHADO (9).

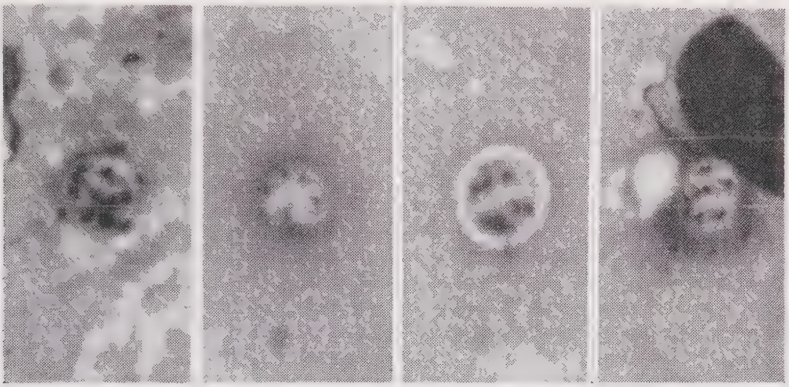


Fig. 1 — *Pneumocystis carinii*. Aumento aproximado de três mil diâmetros. Esfregaço de pulmão. Os dois da esquerda foram encontrados em coelho e os outros dois em cobaias.

O trabalho dos DELANÖE assumiu enorme relevância no sentido prático, porque veio eliminar o êrro que consistia em se dar como padecendo da tripanosomose americana os indivíduos cujo sangue era injetado em cobaias e outros animais de laboratório e em cujo pulmão se encontrava a então considerada forma esquizogônica do *Trypanosoma cruzi* (10).

CARINI e MACIEL (11) tentaram, sem conseguir, a transmissão do pneumocisto. Fracassaram, até agora, as tentativas para cultivá-lo em meios artificiais.

O seu encontro foi verificado no pulmão de vários animais: cães, gatos, cabras, carneiros, preás, ratos, cobaias e coelhos, tanto por pesquisadores brasileiros como por estrangeiros. No homem, foi assinalado pela primeira vez por CARLOS CHAGAS (12), no pulmão de indivíduo falecido com a Doença de Chagas. Transcorreram cêrca de trinta anos para novamente ser visto no homem, ainda no pulmão, por MEER e BRUG (13). Recentemente, entretanto, ERNST ZANDANELL (14) encontrou o parasito no sangue, cérebro, fígado, baço, rim e coração de prematuros vitimados por pneumonia intersticial. Em crianças mortas entre 67 e 131 dias de idade, prematuros e lactentes débeis, JOSEE VANEK e OTTO JIROVEK (15) encontraram o parasito em pulmão apresentando lesões anátomo-patológicas de pneumonia intersticial plasmocitária e consideraram a possibilidade de que o *Pneumocystis carinii* seja o agente causador da doença. Anteriormente, AMMICH (16), BENECKE (17) e outros mais, tinham descrito uma forma não sifilítica de pneumonia intersticial em criança, sem, contudo, chegarem à conclusão de qual teria sido o agente etiológico; VANEK e JIROVEK, não obstante, reexaminando posteriormente as gravuras publicadas por AMMICH e por BENECKE, nelas encontraram o *Pneumocystis carinii* que tinha passado despercebido a êstes. As lesões macro e microscópicas dos casos de AMMICH, de BENECKE e de VANEK e JIROVEK são iguais.

OTTO JIROVEK, em outubro de 1954, informou que na Tchecoslováquia o número de casos de pneumocistose comprovados em autópsia atingia a 360 crianças e três adultos. Já foram confirmados casos na Suíça, França, Alemanha, Áustria, Hungria e Inglaterra (18).

BRUNS e BOTTGER (19) descreveram uma técnica de coloração do *Pneumocystis carinii* pelo Azul de Toluidina, em cortes congelados; oferece a conveniência de ser processo rápido e de mostrar, com pequeno aumento, a distribuição do parasito no tecido.

Os trabalhos sôbre o *Pneumocystis carinii* e que, presentemente, se multiplicam, vieram tirar o parasito do esquecimento em que permaneceu durante décadas e lhe emprestam enorme importância por se tratar de um possível causador de infecção grave, mortal, sobretudo entre recém-nascidos débeis e prematuros. Veio despertar o interêsse de cientistas, pediatras e patologistas. Provocou controvérsia entre os pesquisadores que compõem dois grupos (20): dos que pensam que o parasito é um protozoário e dos que acreditam ser o pneumocisto um cogumelo em cujo caso a pneumocistose seria, por isso mesmo, uma pneumomicose; entre êstes últimos, está o professor OLYMPIO DA FONSECA FILHO, assim se manifestando na conferência lida no Simpósio sôbre Doenças Produzidas pelos Cogumelos, realizado em junho de 1955 na Universidade de Califórnia, em Los Angeles, considerando-o, "provisòriamente, como um Ascomyceto, por apresentar, como única forma conhecida de reprodução, oito endospórios (ascopórios)".

BIBLIOGRAFIA

1 ARAGÃO, H. DE BEAUREPAIRE. Brasil Médico, 271, 1913
2 CHAGAS, C. Mem. do Inst. Osw. Cruz, Rio de Janeiro 1: 159, 1909
3 CARINI, A. Com. Soc. Med. São Paulo, 204, 1910
4 VIANNA, G. Brasil Médico, 61, 1911
5 VIANNA, G. Brasil Médico, 103, 1911
6 VIANNA, G. Brasil Médico, 52, 1912
7 STEPHENSON, A. C. Quart. J. Mic. Sci., 61, 127, 1915
8 DELANÖE, M. et Mmme. PIERRE. C. R. Acad. Sci., 155:658, 1912
9 CHAGAS, C. Brasil Médico, 225, 1913
10 GUERREIRO, C. e MACHADO, A. Brasil Médico, 225, 1913
11 CARINI, A. e MACIEL, J. An. Paulista Med. e Cir. 2: 170, 1914
12 CHAGAS, C. Mem. do Inst. Osw. Cruz, Rio de Janeiro 3: 219, 1911
13 van der MEER, G., BRUG, S. L. Ann. Soc. Belge Med. Tro. 22: 4, 1942
14 ZANDANELL, E. Zbl. f. Path. 92: 74, 1954
15 VANÈK, J., JIROVEC, O. Zbl. Bakt. 158: 120, 1952
16 AMMICH, J. M. Virchows Ach., 302: 539, 1938
17 BENECKE, E. Verk. Dtsch. Path. Ges. 31: 402, 1939
18 JIROVEK, O. Carta enviada ao prof. J. JESUINO MACIEL, São Paulo
19 von BRUNS, G. e BÖTTGER, D. Acta Histochemica Bd. 15: 25, 1954
20 JÍROVEK O., VANÈK, J. Zbt. f. Allg. Path. und Path. An. 92: 324, 1954

Notas sôbre a evolução do virus vacínico em animais silvestres da fauna brasileira*

Cicero Alves Moreira
Instituto Oswaldo Cruz

Desejando colaborar, embora modestamente, nas justas homenagens prestadas ao prof. HENRIQUE ARAGÃO, na passagem do 50.º aniversário de sua entrada como pesquisador no Instituto Oswaldo Cruz, resolvemos publicar esta pequena nota, resultado de estudos que fizemos no período de 1945 a 1947, quando trabalhávamos no Vacinogênico do referido Instituto.

Por esta época, a conselho do prof. ARAGÃO, Diretor do Instituto, começamos a pesquisar a sensibilidade do vírus da vacina antivariólica nos animais silvestres de nosso País.

Assim fizemos com vários animais como: mão pelada (*Procyon cancrivorus*), capivara (*Hydrochoerus capybara*), preá (*Cavia aperea*), ouriço cacheiro (*Coendu villosus*), gambá (*Didelphis aurita*), preguiça (*Bradypus tridactylus*), tatu (*Euphractus sexcintus*), tamanduá (*Tamandua tetradactyla*), quati (*Nasua narica*), jabuti (*Testudo tabulata*), cutia (*Dasyprocta aguti*), etc.

O método por nós usado consistia em raspagem com navalha dos pêlos da região a ser feita a inoculação, assepsia dessa região com álcool; em seguida, praticávamos pequenas incisões paralelas e bastante superficiais, sôbre as quais espalhávamos a polpa vacínica diluída, idêntica à usada na vacinação dos vitelos.

Em todos êsses animais, excetuando-se a preguiça, obtivemos infecção que se desenvolvia normalmente quanto ao aspecto, incubação e duração, desenvolvimento êsse idêntico ao encontrado nos animais empregados na preparação da vacina antivariólica (vitelos e coelhos).

Quanto à preguiça (*Bradypus tridactylus*), animal bastante curioso de nossa fauna, obtivemos uma infecção tão atípica quanto ao tempo de incubação, que resolvemos escrever com maiores detalhes.

Assim é que (agôsto de 1945) recebemos uma preguiça (*Bradypus tridactylus*) na qual fizemos inoculação do virus vacínico. Êste animal ficou prêso em gaiola no biotério anexo ao laboratório vacinogênico, sendo alimentado com fôlhas de parreira e de imbaúba (*Cecropia* sp?).

Era observada diàriamente e para nosso desapontamento houve cicatrização rápida das pequenas incisões feitas no dorso do animal, nada aparecendo que se pudesse relacionar com a vacina.

---

* Recebido para publicação a 15 de Outubro de 1955.

O animal já estava fora do serviço, permanecendo porém, ainda em nosso biotério, quando notamos após 30 dias da inoculação o aparecimento na região inoculada de pequenas vesículas semelhantes as da vacina. A nossa surprêsa foi grande e tivemos a impressão que se tratava de uma infecção outra, que não a produzida pelo vírus da vacina.

Com o fim de verificarmos se era ou não infecção vacínica o que apresentava na preguiça, colhemos por curetagem o material existente no dorso do animal, emulsionamos em glicerina, como se faz com a polpa colhida do vitelo, e, com êsse material, fizemos inoculação na córnea de um coelho.

Em tempo oportuno, fizemos a enucleação do ôlho do coelho e mandamos o material para a Seção de Anatomia Patológica para verificarmos a existência de corpúsculos de Guarnieri.

Posteriormente recebemos da Seção de Anatomia Patológica o laudo n.º 13 252 que constava do seguinte:

Data — 25-10-945.

Material: córnea de coelho inoculado com vacina retirada de preguiça.

Resultado: presença de corpúsculos de Guarnieri nas células da córnea.

Ass. Eitel Duarte, Dr.

Assim comprovamos que a infecção aparecida na preguiça tão tardiamente se tratava de vacina que evoluiu de modo diferente em relação aos outros animais, pois que normalmente em 5 dias após a inoculação, há o aparecimento de vesículas, e na preguiça sòmente após 30 dias foi que isto aconteceu. Em vista dêsse resultado surpreendente, fizemos, posteriormente em outra preguiça, nova inoculação, obtendo também desta vez, resultado idêntico ao da primeira inoculação.

Temos assim mais um dado anômalo sôbre êsse animal, cuja biologia é tão curiosa.

SUMMARY

A note on the evolution of cow-pox virus in wild animals of Brazilian fauna.

We have tried the sensibility of wild animals of Brazilian fauna to the cow-pox virus. The following specimens were submitted to experiences: *Procyon cancrivorus, Hydrochoerus capybara, Cavea aperea, Coendu villosus, Didelphis aurita, Bradypus tridactylus, Euphractus sexcintus, Tamandua tetradactylus, Nasua narica, Dasyprocta aguti and Testudo tabulata.*

In all these animals, — excepting *Bradypus tridactylus* — we have obtained an infection with incubation (five days), aspect and duration similar to cow-pox of the laboratorial animals (calf and rabbit).

In the *Bradypus tridactylus* howewer, the incubation was very long. Only after 30 days of inoculation we verified the infection with the formation of vesiculae and postulae.

Ensaio sôbre a desidrogenação do limoneno*

Humberto T. Cardoso e **N. Botafogo Gonçalves**
Instituto Oswaldo Cruz

A química dos terpenos assinala um aspecto de excepcional importância, que é o da fácil conversão de um dêles em outro, por meio de ações químicas ou físicas muito simples. Isto se traduz pela atribuição a esta classe de compostos orgânicos de propriedade de alta reatibilidade, em que repousam muitas das explicações de suas ações de ordem bioquímica e fisiológica.

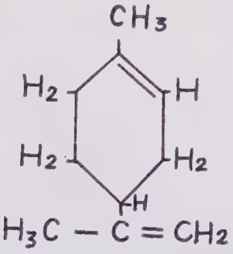
De outro lado, do ponto de vista industrial, são êstes compostos muito procurados como matéria-prima de sínteses de produtos de alto valor, exatamente por se prestarem a múltiplas reações.

O limoneno, terpeno monocíclico de grande reatibilidade, é um possível material básico de sínteses importantes, sendo encontrado em sua forma dextrorotatória, constituindo cêrca de 90% do óleo de laranja. Aparece, ainda, abundantemente, nos óleos das frutas cítricas, bem como num grande número de óleos essenciais, como nérole e outros.

Entre nós, o óleo de laranja é matéria-prima hoje de baixo preço, não oferecendo interêsse de industrialização, embora já tenha havido, no período da guerra, boa utilização do mesmo e, até tenha sido objeto de uma tentativa oficial de industrialização, ao lado da pectina da laranja.

O isômero levogiro e o limoneno inativo, o dipenteno também aparecem em muitos óleos essenciais, mas não oferecem para nós o mesmo interêsse que o primeiro citado.

Como é sabido, o limoneno, metil, 1-isopropril, 4-ciclo hexeno, 1 ou resumidamente p-mentadieno, 1-8, tem uma das duplas ligações no seu núcleo e outra na cadeia isopropilênica, o que ao lado da não saturação ainda lhe confere a propriedade de fácil isomerização.



LIMONENO

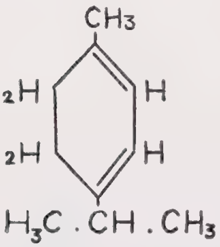
---

* Recebido para publicação a 15 de Outubro de 1955.

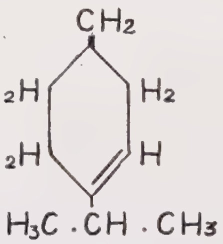
Os halogênios, particularmente, atuam com bastante energia, saturando as duplas ligações e dando origem aos derivados tetra-halogenados, dos quais os bromados são sólidos cristalinos, e servem à sua identificação. Os derivados bromados dos isômeros ativos fundem a 104-105° C, enquanto o derivado do dipenteno tem seu ponto de fusão situado a 125-126° c.

A transformação do dipenteno na forma racêmica também é sabido que se pode realizar fàcilmente por qualquer ação física ou química e, assim, a observação das propriedades está sujeita a desvios característicos .

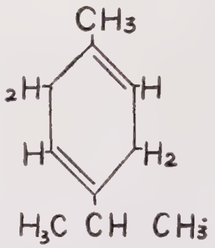
A mobilidade das duplas ligações nesses compostos pode ser ilustrada com o caso particular da conversão do limoneno nos terpinenos, fato comum nas reações em que atua o primeiro.



TERPINENO ALFA



TERPINENO BETA

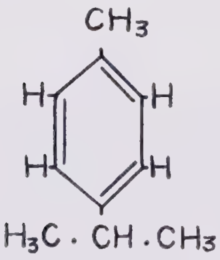


TERPINENO GAMA

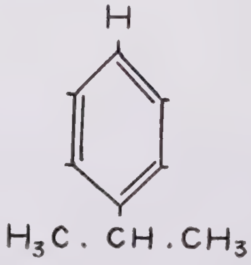
A ação conjugada da temperatura e de catalisadores metálicos, o níquel por exemplo, conduz à desidrogenação parcial do limonemo, obtendo-se na mistura final da reação certa quantidade de cimeno e cumeno. Estas operações, em temperaturas inferiores e atmosfera de hidrogênio, podem conduzir à p. mentana e, com cuidadoso contrôle de temperatura é possível obter simultâneamente produtos de desidrogenação e hidrogenação, seja, p-cimeno e p-mentana.

De modo geral, entretanto, os rendimentos não são interessantes, sem contar com a dificuldade de purificação das misturas reacionais.

Sendo o p-cimeno e o cumeno hidrocarbonetos da série benzênica, prestam-se como ponto de partida para várias sínteses de valor, entre as quais a do timol. Têm emprêgo ainda como dissolventes ou na preparação do benzeno e do tolueno.



p.cimeno



cumeno

A fonte principal do p-cimeno é como subproduto na indústria do papel, na Europa e na América do Norte, retirado do líquido avermelhado que se recolhe após o tratamento da polpa da madeira de várias espécies de pinheiros, com o bissulfito. É muito difícil a purificação dessa mistura, daí o p-cimeno, embora abundante, não poder ser obtido suficientemente puro a preço razoável, como matéria-prima. A síntese pode competir, neste particular, com essa fonte de produção.

Nesse tratamento da polpa por bissulfito, os óleos essenciais presentes nas madeiras usadas sofrem alterações químicas, originando-se boas qualidades de cumeno e de p-cimeno. A presença do limoneno, nas formas ativas òticamente ou como dipenteno, permite admitir que sejam concorrentes no aparecimento daqueles hidrocarbonetos e nos sugeriu investigar o mecanismo limoneno-dipenteno-p-cimeno, com um método paralelo e, ao mesmo tempo, a possibilidade do aproveitamento daquele terpeno como fonte do p-cimeno para sínteses como a do timol.

A ação do bissulfito poderia ser substituída por SO^2, procurando-se as melhores condições para o desenvolvimento da reação e, neste sentido, foram desenvolvidos êstes ensaios de desidrogenação do limoneno do óleo de laranja.

A ultilização de catalisadores para se chegar a essa desidrogenação já foi registrada há muito na literatura científica (Sabatier 1). O selênio e o enxofre têm sido usados por vários autores.

Nas tentativas que fizemos, iniciamos os ensaios, empregando corrente de SO_2 sêco, a princípio à temperatura ambiente e, depois, a quente.

O calor facilitava muito a reação mas, ao fim de 30 minutos, já o líquido começa a turvar-se, com temperatura na ordem de 100° C, a mistura apresentava uma crepitação com desprendimento de vapor d'água.

A presença da água recémformada estacionava por fim a operação e isto pôde ser obstado pelo emprêgo de sulfato de sódio anidro, como fixador da mesma.

Na descrição que fazemos a seguir da purificação e tratamento dos produtos resultantes da reação com SO_2, parece que se desenvolve realmente uma ação semelhante à que ocorre no caso da sulfitação da polpa.

Tratamento do limoneno

O material usado foi o óleo de laranja comercial, que sofreu arrastamento prévio com vapor dágua.

A seguir, foi destilado fracionadamente, em aparelho de Podbielniak, coluna de 1,20 m com isolamento de parede dupla de quartzo, aparecendo no quadro I os dados dessa operação:

QUADRO I

FRAÇÃO	Temperatura C°	Volume Frações cm³	Volume total cm³
1	até 173.5	4.5	4.5
2	173.5 — 176	14.5	14.5
3	176 — 177	25.0	39.5
4	177	50.0	89.5
5	177	6.8	96.3
Resíduo	—	p.d. 3,7	100 —

Usando a fração número 4 dessa destilação, preparamos o derivado bromado, usando a técnica corrente. O solvente utilizado foi uma mistura de 10 parte de álcool amílico com 25 parte de éter etílico e o limoneno dissolvido no mesmo na razão de 20% v/v. A adição do bromo em solução etérea a 20% v/v resfriada a aproximadamente 0°C, bem como a solução do limoneno, fêz-se lentamente até a coloração persistente. Evaporando quase todo o solvente, os cristais obtidos foram lavados com solvente resfriado e cristalizado em álcool amílico. Os cristais foram a seguir dessecados em dessecador com vácuo. P. f. 102°C.

As outras características desta fração aparecem no quadro III, juntamente com as do cimeno.

Purificação do p-cimeno

Com o fim de termos à mão material para comparação, purificamos p-cimeno, de origem americana, segundo os itens abaixo:

a) Purificação preliminar, segundo o método de Broedtker (2), pelo ácido sulfúrico concentrado, seguido de arrastamento com vapor dágua em presença de óxido de magnésio e de permanganato de potássio. Por fim foi dessecado com o fio de sódio.

b) Destilação: No mesmo aparêlho de destilação antes mencionado para o limoneno, foi o produto resultante do tratamento anterior destilado e obtidos os dados que aparecem no quadro II:

QUADRO II

FRAÇÃO	Temperatura C°	Volume Frações cm³	Volume total cm³
1	até 173	10,0	10,0
2	173 — 175,5	19,5	29,5
3	175,5	53,0	82,5
4	175,5 — 176	10,0	92,5
Resíduo	—	p.d. 7,5	100,0

Empregando a fração número 3 desta destilação, determinamos as características que estão apresentadas no quadro III.

QUADRO III

AMOSTRA	$(\alpha)_D^{25mC}$	dens, 25/25mC	$N_D^{25°C}$	REF. MOL.	
				achada	teórica
L — 4	+ 114,4°	0,838	1,4739	45,65	48,04
C — 3		0,851	1,4920	45,75	46,77

Dados:

1 — L-4 e C-3 são: fração 4 da destilação do limoneno e fração 3 da do cimeno, dos quadros II e III.

2 — O poder rotatório foi determinado com tubo de 10 mm de comprimento, solução em $CHCl_3$, contendo em 25 cm³ o seguinte: L-4 = 1,4464 g e C-3 = 1,3606 g.

Exame espectrofotométrico do limoneno e do p-cimeno

Foi usado o espectrofotômetro de Beckman, modêlo DU, para a obtenção dos valores que se encontram no quadro IV, com os quais foram traçadas as curvas do gráfico A.

QUADRO IV

mμ	E 1cm (L — 4)	E 1cm (C — 3)	1% E 1cm (L — 4)	1% E 1cm (C — 3)
220	1,840	—	—	—
255	0,780	2,500	18,13	36,12
230	0,580	0,910	13,48	13,15
235	0,442	0,635	10,23	9'17
240	0,225	0,710	5,11	10,26
245	0,125	0,830	2,79	11,88
250	0,062	1,000	1,44	14,45
260	0,036	1,900	0,97	27,45
265	0,032	1,900	0,83	—
270	0,026	1,350	0,47	19,50
275	0,025	1,250	0,60	18,06
280	0,023	0,225	—	3,25
285	0,021	0,130	—	1,87
290	0,018	0,095	—	1,37
295	0,017	0,057	—	0,82
300	0,015	0,032	—	0,46
390	0	0	—	—

L-4 — Fração n.º 4, da destilação do limoneno: 21,5 mg 150 cm³
C-3 — Fração n.º 3, da destilação do cimeno: 34,6 mg 150 cm³
Solvente: álcool isopropílico.

Desidrogenação do limoneno

Em balão dotado de condensador de refluxo, com sulfato de sódio anidro em excesso (cêrca de 12 g) e 120 cm^3 de limoneno prèviamente destilado, faz-se chegar uma corrente contínua de SO^2 prèviamente dessecado.

Com um banho de ar aquece-se o material por um tempo total de 10 horas, intermitentes. Não se nota a crepitação obtida sem emprêgo do sulfato de sódio.

O produto da reação (102 cm^3) foi destilado na coluna de Podbielniak, tendo recolhido-se o total de 8,7 cm^3, na faixa de temperaturas de 173 a 177°C.

O exame espectrofotométrico da fração número 3 (p.eb.) deu os resultados que são apresentados no quadro V.

Note-se aí que refizemos outra determinação paralela da fração 3 do p-cimeno e que restringimos a faixa de observação à que comporta a zona característica do p-cimeno, seja de 245 a 290 milimicra.

QUADRO V

$m\mu$	E 1cm (L — SO2)	E 1cm (C — 3)
245	0,800	0,485
250	0,800	0,550
255	0,810	0,640
260	0,790	0,740
265	0,790	0,790
270	0,775	0,640
275	0,760	0,610
280	0,680	0,145
285	0,565	0,090
290	0,430	0,065

L-SO_2 = fração 3 da destilação do produto de reação do limoneno com SO_2: 19,50 mg 150 cm^3

C-3 = fração 3 da destilação do cimeno: 14,25 mg 150 cm^3
Solvente = álcool isopropílico.

O valor de $E^{1\%}_{1cm}$ para p-cimeno, nesta determinação é de 27,71 e, com base nêle, calculando quanto teria o L-SO_2 de p-cimeno chega-se ao valor de 73% aproximadamente.

Esta fração ainda pode ser mais purificada pelo tratamento desterpenizante de Broedtker, mas já nessas condições não se consegue obter o derivado bromado cristalino, característico do limoneno, nem mesmo descora o bromo adicionado, à semelhança do que também ocorre com o p-cimeno.

Conclusão

Dos ensaios realizados, pode concluir-se que a ação desidrogenadora do SO_2 pode explicar a transformação dos óleos essenciais de algumas das madeiras empregadas na preparação do papel, pela sulfitação da polpa e, com certo aperfeiçoamento, é praticável a transformação do limoneno do óleo de laranja para o fim de obter o p-cimeno.

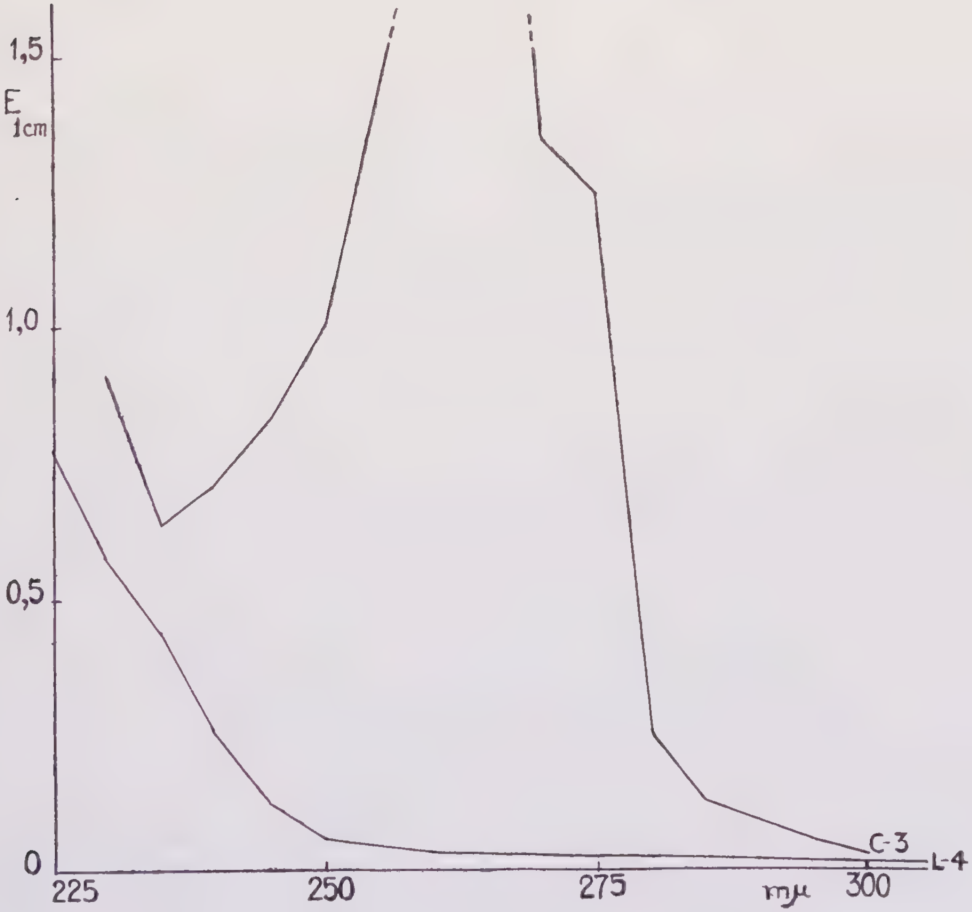


Gráfico A — Curvas de absorção no U.V. do limoneno e do p-cimeno.

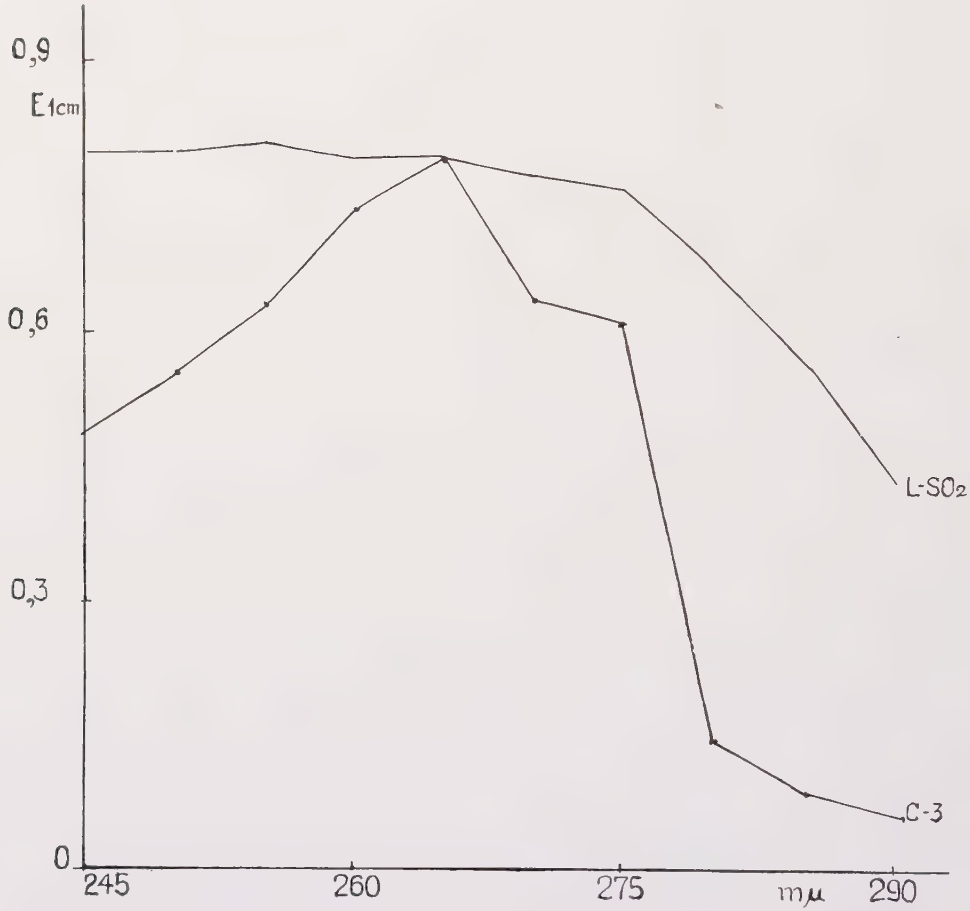


Gráfico B — Curvas de absorção no U.V. do limonemo tratado com SO_2 e do p-cimento.

BIBLIOGRAFIA

(1) 1927 — Sabatier, *in* Austerweil, G. e Lemay, L.
Bull. Soc. Chim., *41*, p. 454.

(2) 1929 — Broedtker, E.
J. Pharm. & Chim., *9*, p. 41.

Contribuição para o estudo da Euphorbia brasiliensis **Lam.**[*]

R. J. de Siqueira-Jaccoud
Instituto Oswaldo Cruz

(Com 8 figuras)

INTRODUÇÃO

Planta interessante e que há muito nos chamou a atenção é a "erva de Santa Luzia",um dos sinônimos vulgares por que é comumente conhecida a EUPHORBIACEAE — *Euphorbia brasiliensis* Lam.

Orientados pelo Dr. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO, do Instituto Oswaldo Cruz, há tempos nos interessamos pelas plantas lactescentes a fim de procurar, nas mesmas, protozoários parasitos, com especial atenção para o gênero *Manihot* (EUPHORBIACEAE) onde o referido pesquisador encontrou e descreveu nova *Phytomonas* (1) e que, por acidente, as plantas parasitadas e cultivadas no Hôrto de Plantas Medicinais do Instituto Oswaldo Cruz se perderam. No entanto, tivemos a oportunidade de observar um flagelado em uma plantação de "macacheira" (*Manihot palmata* Muell. Arg.-?-) na cidade de Manaus, em 1954, que possìvelmente se trate da *Phytomonas françai* Arag.

Mais tarde, nosso interêsse, em relação à planta em estudo, foi aumentado ao verificarmos, na bibliografia sôbre plantas medicinais brasileiras, as propriedades que lhe são atribuídas no tratamento da "catarata". Cremos merecer a atenção de pesquisadores o estudo da "erva de Santa Luzia", cujo nome popular está relacionado com a suposta propriedade curativa do látex da mesma. Assim sendo, apresentamos descrição anatômica da *Euphorbia brasiliensis* Lam. de modo a contribuir para o estudo farmacognóstico da mesma.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de planta cosmopolita, ruderal entre nós (2) e abundante nos terrenos do Instituto Oswaldo Cruz, de onde obtivemos material para nossos estudos.

---

[*] Recebido para publicação a 15 de Outubro de 1955.

No que se refere a pesquisas de protozoários no látex da planta em questão, é suficiente examinar uma gôta dêste entre lâmina e lamínula, ao microscópico. A fim de se constatar simplesmente a presença de flagelados, é suficiente a observação com aumento relativamente pequeno (100 diâmetros), quando já se percebe a presença das *Phytomonas* devido seu movimento flagelar, deslocando as partículas suspensas no látex. Para exame dos parasitos em lâminas coradas, usamos esfregaços, como os empregados para sangue, fixando pelo álcool metílico e corando pelo corante de Giemsa, que nos deram ótimas preparações.

Para o estudo anatômico, foram usados os seguintes métodos: em se tratando de exames rápidos, era a planta cortada à mão livre, com auxílio de navalha, e corados os cortes pela solução de tionina, que nos deu ótimos contrastes entre os tecidos celulósticos e lignificados. Outras vêzes, após descorados os cortes pela solução de hipoclorito (água sanitária diluida) e suficientemente lavados eram, então, os mesmos, corados pelas soluções de verde de iodo e vermelho congo, ambas a 1%. Para pesquisas de amido, usou-se solução iodo-iodetada.

Preparações permanentes foram obtidas a partir da fixação do material pelo F A A-(3), desidratação através dos álcoois etílicos, segundo técnica comum.

Ao cortarmos o material pelo micrótomo tipo "Spencer", mesmo usando como solvente intermediário o clorofórmio, ao em vez do xilol, observamos grande dureza das partes lignificadas das peças incluídas na parafina, o que prejudicava as preparações. Assim sendo, lançamos mão do artifício que consiste em, nos blocos preparados, raspar a parafina até o afloramento do material e, então, colocá-los imersos em água por alguns dias (4), o que veio sanar as dificuldades existentes. A espessura dos cortes foi sempre de 10 micra e os mesmos corados pelas soluções hidroalcoólica de safranina e verde rápido (fast green) saturando óleo de cravo.

Os desenhos foram feitos com auxílio da câmara clara "Spencer", as fotomicrografias realizadas na Seção de Fotografias do Instituto Oswaldo Cruz e as medidas ao microscópio com auxílio do micrômetro "Zeiss" de 0,01 mm.

PHYTOMONAS

Embora se tratando de assunto já conhecido e não estando diretamente relacionado com nosso atual estudo, mencionamos a existência dos zooparasitos no látex da planta em questão, encontrados por NOGUCHI, em Honduras (1924) (5), e estampamos as figuras 1-A e 1-B.

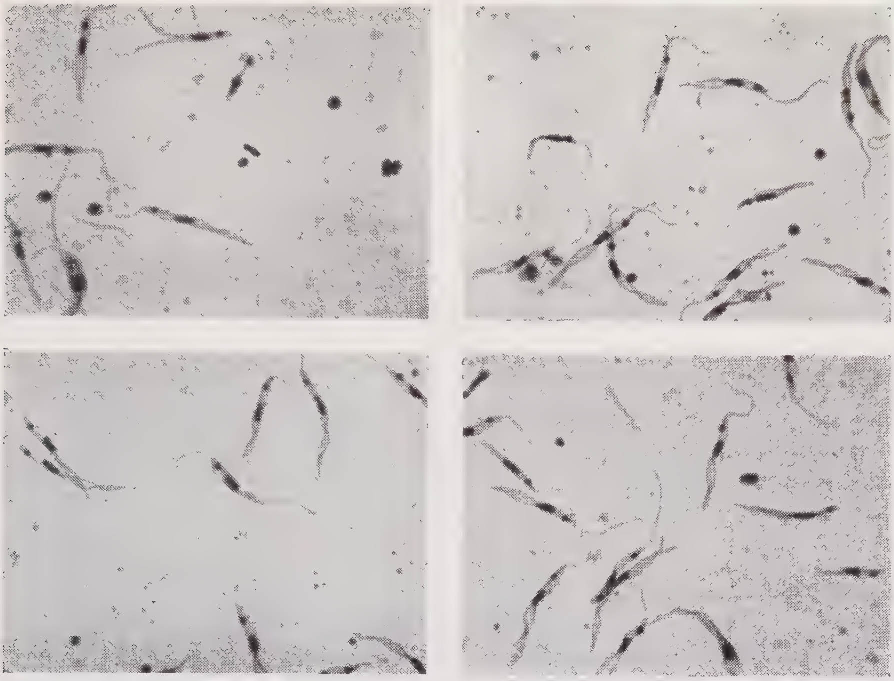


Fig. 1-A — Fotomicrografias do esfregaço de uma lâmina corado pelo Giemsa, onde se vê *Phytomonas* em fase de divisão.

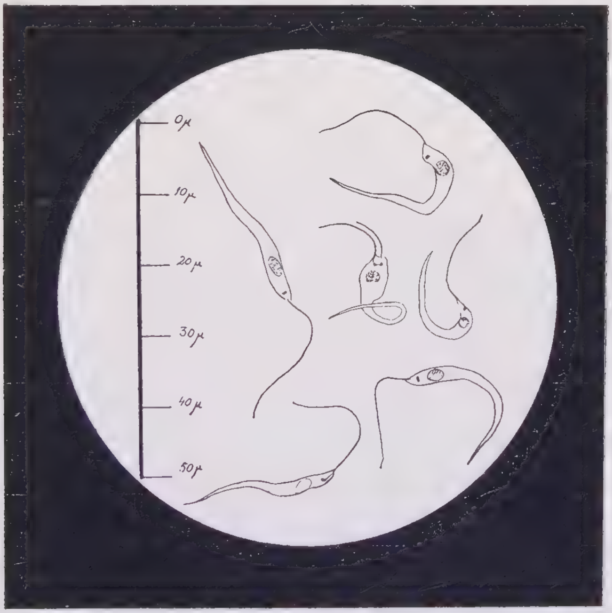


Fig. 1-B — Desenho feito, com o auxílio de câmara clara, de uma lâmina nas mesmas condições da que foi fatomicrografada.

DESCRIÇÃO DA *EUPHORBIA BRASILIENSIS* LAM. E SUAS VARIEDADES

EUPHORBIA BRASILIENSIS *Lam. Encyc.* ii. 423.
Euphorbia hyssopifolia Linn. *Syst.* ed. X. 1048.
Euphorbia Klotzschiana Miq. in *Nat. Verh. Wet. Haarl.* vii. (1851). (Stirp. Surin. Sel) 95.
Euphorbia serrulata Vell. *Fl. Flum.* 203; v. t. 17. (6).

Caule suberecto, herbáceo. Fôlhas opostas, na base desiguais, com estípulas triangulares, mais ou menos fimbriadas, solitárias ou soldadas duas a duas. Cimeiras terminais pedunculadas dispostas em fascículos frouxos, com poucas flores, pequenas, inteiramente glabras. Invólucros turbinados, lisos, inteiramente ásperos, com os segmentos primários triangulares, agudos, ciliados; os secundários duas vêzes mais largos e compridos do que a glândula, íntegros, elípticos, com brácteas largos trífidas, estreitíssimas, duas vêzes mais curta do que o invólucro; glândula transversalmente elíptica, quase côncava. Címulas masculinas com duas a quatro flôres; ovário glabro, com estilete erecto, delgado, bífido ou bipartido. Cápsulas pequenas com sementes tetrágono-elipsóides, com duas ou três rugas transversais e grosseiras, vermelhas, íntegras ou mais ou menos fissuradas.

Var. α *Pulchella* Boiss. in DC. *Prodr.* XV. 1. 24. Fôlhas e base mais largas, freqüentemente sub-cordiforme, mais largamente ou mais estreitamente lineares.

Euphorbia pulchella H.B.K. *Nov. Gen.* II. 45.

Euphorbia hypericifolia var. *falciformis* Klotzsch in Hook. *Lond. Journ.* II. 42.

Var. β *Hyssopifolia* Boiss. in DC. 1 c. Ramos flexuosos abertamente dicotômicos desde a base; fôlhas oblongo-lineares mais curtas, ou as caulinares em parte alongadas, sendo as outras mais curtas; apêndice das glândulas avermelhadas.

Euphorbia hyssopifolia Linn. Syst 10. n. 19.

Var. γ *Blancheti* BOISS. in DC. 1. c. Ramos curtos com cinco a dez centímetros ramfiicados; fôlhas oblongo-obovadas, as superiores lanceolato ou linear-elípticas; apêndices obovados, muito mais largo do que as glândulas.

Euphorbia Blancheti Miquel in *Linnaea* XXII. 797.

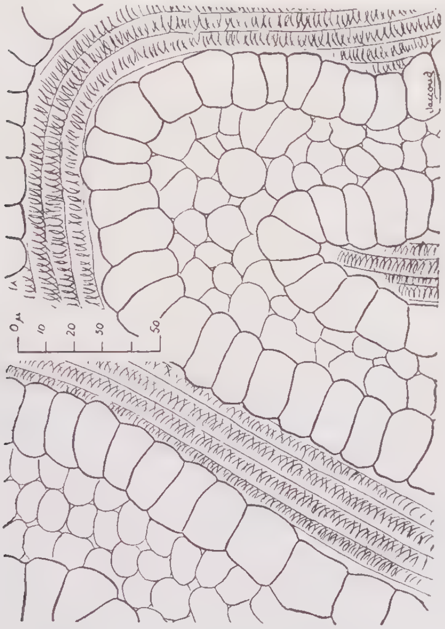
NOMES VULGARES: *Erva de Santa Luzia, erva andorinha, bacurauzinho, maria leite, erva de cobra* e, em Tupi, *caatia*.

ESTUDO QUÍMICO

Na blibliografia consultada não encontramos nenhum estudo químico sôbre a planta em questão. Baseado em SHARAF (7), que isolou um alcalóide da *Euphorbia peplus* Lin., fizemos pesquisas de bases orgânicas na *erva de Santa Luzia* e nada verificamos.

ESTUDO ANATÔMICO

FÔLHA — Um corte transversal feito no limbo de uma fôlha da *Euphorbia brasiliensis* Lam. apresenta-nos um mesófilo com muitos ramos de feixes de vasos líbero-lenhosos os quais aparecem secionados em diversas direções. A fig. 2 nos dá uma idéia da sinuosidade dos referidos feixes no mesófilo das fôlhas.



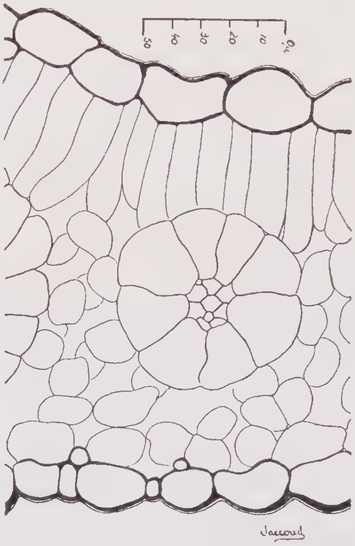


Fig. 2 — Disposição dos feixes líbero-lenhosos no mesófilo de uma fôlha da *Euphorbia brasiliensis* Lam., envolvidos pelas bainhas parenquimatosas dos feixes, muito desenvolvidas.
Fig. 3 — Aspecto dado por um corte transversal, feito no limbo da fôlha da planta em estudo.

A epiderme superior é constituída por células de tamanho e forma irregulares, com paredes engrossadas, estomas e com cutícula contínua. Em cortes, as células mostram-se ainda irregulares onde se encontram desde as tabulares, medindo 41,5 μ por 15 μ ou 23 μ por 10 μ, a quase circulares com 16,5 μ por 13,3 μ ou 16,5 μ por 16,5 μ — entre outras medidas (Figs. 3 e 4-A).

Segue-se o parênquima paliçadico que está presente sob tôda a epiderme (fig. 3) e ocupa, quando sob os feixes líbero-lenhosos aproximadamente um têrço do mesófilo e, quando no intervalo dos mesmos chegam a atingir próximo da metade do mesófilo. São células alongadas, alcançando até 50 μ por 10 μ as maiores e, as menores, 24 μ por 10 μ. Entre êsse tecido e o precedente, se encontram ramificações dos laticíferos que aperecem ainda em outros pontos do mesófilo.

Após as células paliçadas, encontramos o parênquima esponjoso que, como já vimos, é interrompido pelos feixes líbero-lenhosos. Êsse tecido é constituído por células de contôrno irregular (fig. 3).

Os feixes se apresentam envolvidos por desenvolvida bainha parenquimatosa dos feixes (Figs. 2 e 3), cujos elementos variam de tamanho (de 25μ por 25 μ os maiores, a 11,5 μ por 16,5 μ os menores).

A epiderme inferior que apresenta cutícula e também estoma é constituída por células mais irregulares que as da epiderme superior e com tamanho aproximado dos elementos desta, sendo todavia mais estreitos (figs. 2 e 4-B).

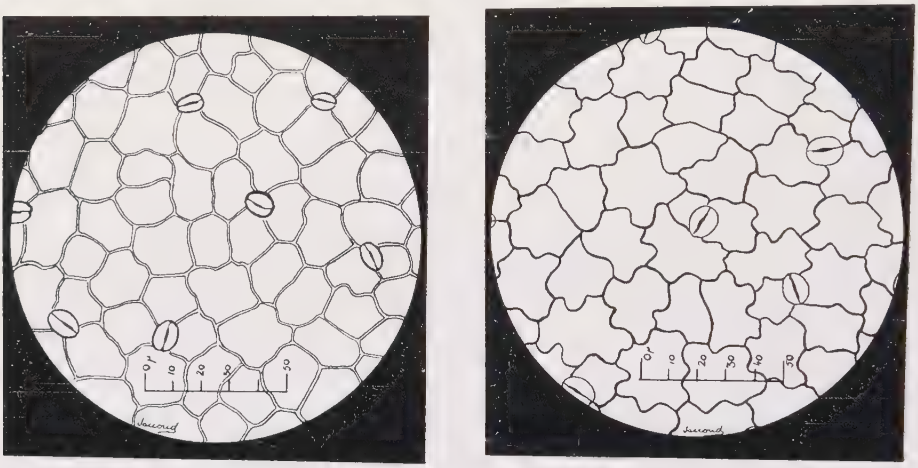


Fig. 4-A — Aspecto da epiderme superior da fôlha. Desenho feito com auxílio da câmara clara.
Fig. 4-B — Aspecto da epiderme inferior

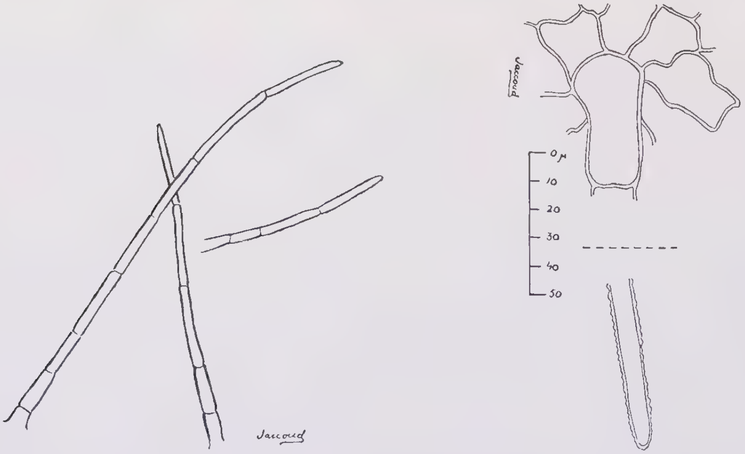


Fig. 5-A — Pêlos da fôlha e caule da *Euphorbia brasiliensis* Lam vistos com pequeno aumento.
Fig. 5-B — Detalhes de um pêlo.

As fôlhas, principalmente as mais jovens, apresentam pêlos compridos e segmentados, como nos mostram as figuras 5-A e 5-B. Pêlos idênticos são também encontrados nos caules jovens.

NERVURA PRINCIPAL — A epiderme superior é formada de células maiores que as da inferior e de contôrno mais ou menos circular, principalmente nesta. Em ambas as epidermes está presente a cutícula.

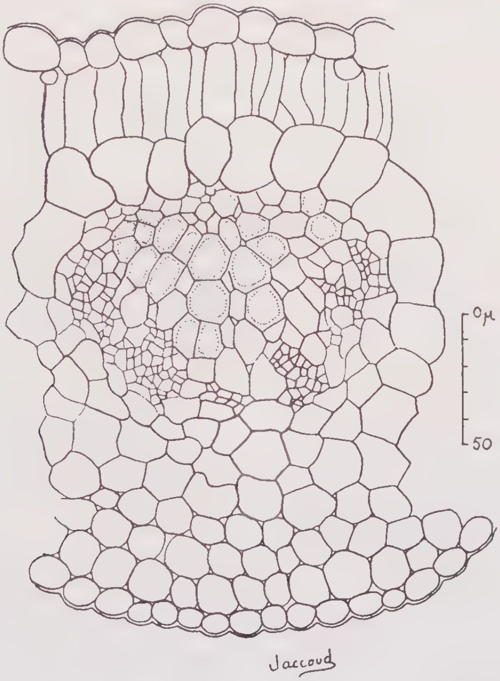


Fig. 6 — Detalhes da nervura principal de uma fôlha de *Euphorbia brasiliensis* Lam.

À epiderme superior segue-se o tecido paliçádico e, entre êstes, é comum o aparecimento de ramificações de vasos laticíferos. Uma bainha de feixes que, não contornando completamente os feixes líbero-lenhosos, aparece em seguida, formando um semicírculo; seus elementos maiores medem aproximadamente 28 μ por 25 μ. Posteriormente, temos o xilena com vasos e raios medulares, antecedendo ao líber que se apresenta em grupos de elementos, intercalando com formações que provàvelmente se tratam de tubos laticíferos. O parênquima imediatamente localizado após o floema é de início constituído por células de contôrno pouco irregular que, à medida que se aproximam da epiderme inferior, vão tornando-se mais circulares. Finalmente, encontramos a epiderme inferior (fig. 6).

CAULE — Fizemos cortes transversais em caule da *Euphorbia brasiliensis* Lam. que se apresentava com aproximadamente 5 mm. de diâmetro e encontramos, a partir da periferia para o centro, os seguintes tecidos: A epiderme, que apresenta cutícula contínua envolvendo todo o caule e de aproximadamente 2,5 μ de espessura, é constituída por uma camada de células tabulares elipsoidais de paredes engrossadas, ricas em protoplasma e medindo, as maiores em tôrno de 50 μ tangencialmente por 10 μ radialmente e 30 μ longitudinalmente (em corte longitudinal). Grande número destas células se apresentam com septo radial, daí as menores atingirem 20 μ. Quanto à largura radial, pouco variável, temos de 6,5 μ a excepcionalmente 13,5 μ; no corte longitudinal, encontramos entre 18 μ a 30 μ, aproximadamente.

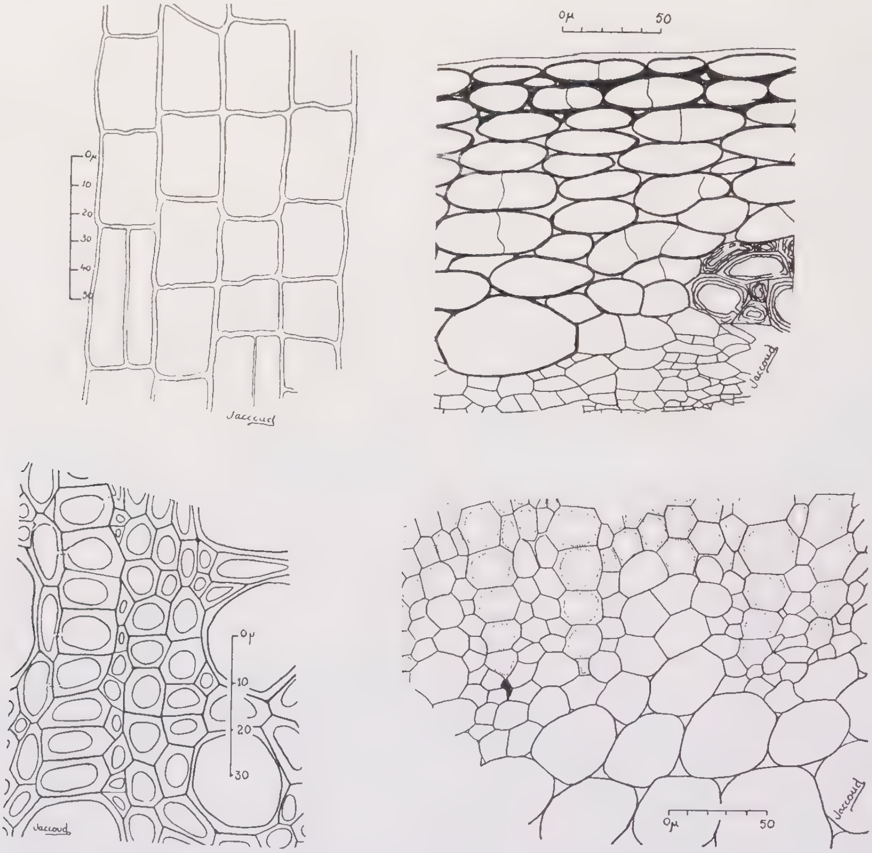
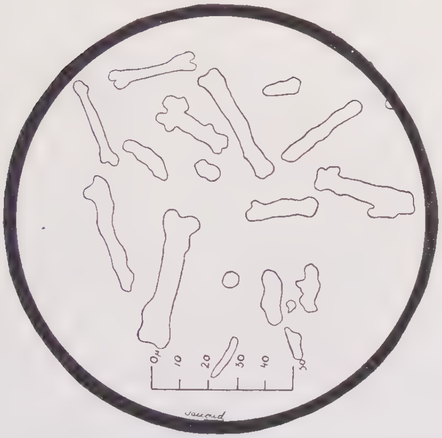


Fig. 7 — Aspectos do caule da *erva de Santa Luzia*.
7-A — Epiderme do caule.
7-B — Corte transversal, onde se vê: epiderme com cutícula, colenquima(parênquima cortical, tubo laticífero, esclerócitos, floema e câmbio (esquematizado).
7-C — Xilema.
7-D — Desenho mostrando a parte mais interna do xilema e parênquina fundamental.

Segue-se à epiderme um colênquima constituído por células regulares, também elipsoidais, pouco maiores que as da epiderme em comprimento tangencial e o duplo, às vêzes o triplo, na largura radial (fig. 7-A), ainda com paredes engrossadas e, a maioria com septos radiais e com uma ou duas camadas. Medem as maiores 60 μ por 18 μ, podendo em comprimento, vistas pelos cortes longitudinais, atingir a 70 μ; as menores, geralmente resultantes da divisão das células já descritas, medem aproximadamente 16,5 μ por 8,3 μ.

O parênquima cortical que vem imediatamente após o colênquima é formado por células que, a princípio são ainda elipsoidais e, à proporção que se aproximam do cilindro central, vão tornando-se globulosas, e medem as maiores 71 μ por 25 μ; embora mais raramente, estas células podem chegar, longitudinalmente, a 81,6 μ. As menores atingem aproximadamente 20 μ por 13 μ. Tanto neste tecido como no colênquima, encontramos muitos grãos de amido.

Após o perênquima cortical, encontramos os tubos laticíferos que vão de seção circular a alongados no sentido tangencial, de paredes grossas, por volta de 0,83 μ e localizados no limite do córtex com o floema e se alternando com ilhotas alongadas tangencialmente de esclerócitos. Medem os tubos lactíferos, em média, 62 μ por 30 μ, possuindo os maiores 75 μ por 41,5 μ.



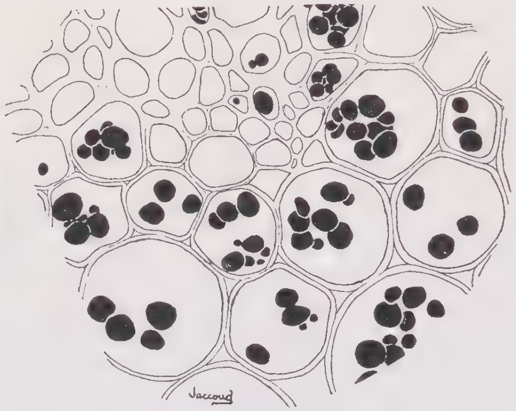


Fig. 8-A — Amido do látex da *Euphorbia brasiliensis* Lam.

Fig. 8-B — Desenho esquemático da localização de amido nos tecidos mais internos do caule.

As faixas de esclerócitos variam de extensão, ora com poucos elementos, ora atingindo 360 μ de comprimento tangencial por 43 μ a 72 μ de largura. As seções dos esclerócitos atingem de 41,5 μ por 33 μ com 8,3 μ de espessura de paredes, ao lado de outras bem menores com 11,5 μ por 7 μ e 2 μ de paredes.

O floema que se segue apresenta-se sem normalidade, bem como o câmbio. O lenho secundário é constituído, além dos vasos, por fibras normais mais ou menos regulares (fig. 7-B) e por fibras gelatinosas, ambas cortadas pelos raios medulares.

Os vasos do xilema, porosos, com perfuração única e ampla, se apresentam isolados ou grupados de 2 a 3 e, raramente, mais. Têm formato mais ou menos circular, um pouco mais alongados no sentido radial e medindo os maiores aproximadamente de 48 μ por 35 μ. Os menores dão média por volta de 30 μ por 18,5 μ com vasos de 11,5 μ por 6,5 μ.

Para dentro do lenho secundário descrito, encontramos o proto e meta-xilema do primário, parcialmente envoltos por um tecido perimedular, de células pequenas (fig. 7-C). O parênquina fundamental é constituído por células grandes e globosas.

RESUMO

O autor, após tecer rápidas considerações sôbre *Phytomonas* da planta em questão e do gênero *Manihot*, passa a dar: métodos por êle empregados na confecção da presente nota; sucinta descrição da *Euphorbia brasiliensis* Lam. e suas variedades; nomes vulgares por que é a mesma conhecida no Brasil; resultado negativo, por êle encontrado, nas pesquisas de alcalóide e, finalmente, descrição anatômica da fôlha e caule.

Fôlha. a — *limbo*: epidermes com cutícula e estoma, uma camada de células paliçadicas, tecido lacunoso, ramificações dos tubos laticíferos e bainha dos feixes bem desenvolvida. b — *nervura principal*: epidermes com cutícula, uma camada de tecido paliçadico, bainha dos feixes em semicírculo, xilema, floema e parênquima. *Caule* — Epiderme com cutícula, colênquima, parênquima cortical, tubos laticíferos, esclerócitos, floema, câmbio e fibras do lenho (inclusive gelatinosas), vasos e, finalmente, parênquima fundamental.

ZUSAMMENFASSUNG.

Nach der vorlaeufigen Bekanntgabe der Betrachtungen ueber *Phytomonas* der vorliegenden Pflanze und ueber die Gattung *Manihot* teilt der Autor ergaenzend folgendes mit: resumierende Beschreibung von *Euphorbia brasiliensis* Lam. und ihrer Varietaeten; Vulgaernamen, unter denen sie in Brasilien bekannt ist; das von ihm gefundene negative Resultat ueber die Untersuchungen der Alkaloide und zum Schluss eine anatomische Beschreibung von Blatt und Stengel derselben.

Blatt. a) *Spreite*: Epidermis mit Cuticula und Spaltoeffnung, eine Schicht von Palisadenzellen, Lakunen-Gewebe, Verzweigungen der Milchgefaesse und Gefaessbuendelscheiden sind gut entwickelt. b) *Hauptader*: Epidermis mit Cuticula, eine Schicht von Palisadenzellen, Gefaessbuendelscheide in Halbkreisform, Xylem, Phloem und Parenchym.

Stengel: Epidermis mit Cuticula, Cholenchym, Korkparenchym, Milchgefaesse, Sklerite, Phloem, Kambium und Holzfasern (einschliesslich Schleimfasern), Gefaesse und zum Schluss Grundparenchym.

BIBLIOGRAFIA

1 — Aragão, H. de B. — 1927. Sur un Flagellé du Latex de *Manihot palmata* — *Phytomonas françai* P. N. Sp., C. R. Soc. Biol. *97*: 1077.

2 — Kuhlmann, J. G., Occhioni, P. e Falcão, J. I. de A. — 1942. Contrib. ao estudo das plan. ruderais do Brasil. Arch. Jard. Bot. *VII*: 122.

3 — Sass, J. E. — 1951. *Botanical Microtechnique*. II Ed.-The Iowa St. Coll. Press. Ames, Iowa. USA.: 15.

4 — Rangel, J. F. — 1940. Técnicas Fitopatológicas. Rev. Soc. Bras. Agrono. 28.

5 — Wenyon, C. M. — 1926. Protozoology. Baillière, Tindall and Cox. London. *V.I*: 390.

6 — Index Kewensis V. I: 921-931.

7 — Sharaf, A. A. — 1949. Chemical Invest. of the Egyptian Plant, *Euphorbia peplus*. Brit. Vete. Jour., *105* (4): 128.

Observações sôbre eliminação de dejeções e tempo de sucção em alguns triatomíneos sul-americanos

Emmanuel Dias *

(Com 4 quadros)

Sabe-se que para o mecanismo contaminativo habitual da transmissão do *Schizotrypanum cruzi* do inseto ao vertebrado exerce papel relevante o hábito do hematófago emitir dejeções infectantes, quando em contacto com o hospedeiro receptível. Naturalmente, êsse contacto se estabelece nas ocasiões em que o transmissor, levado por suas necessidades fisiológicas, procura, à noite, sugar o sangue de sua vítima.

Embora alguns autores como, por exemplo, CHANDLER (1949) e DIAS & CHANDLER (1949), se tenham referido à imoprtância dos hábitos de defecação dos triatomíneos, devem-se a WOOD (1951) as primeiras observações experimentais sôbre o assunto. WOOD (1951), trabalhando com alguns exemplares adultos das espécies norte-americanas *Triatoma protacta, T. uhleri, T. rubida uhleri, T. longipes* e *Paratriatoma hirsuta,* verificou-lhes a duração do tempo de sucção (*contact feeding time*), bem como o tempo e freqüência com que depositavam seus "excreta" após se encherem de sangue. Concluiu de suas observações:

> "From the brief observations recorded, *Triatoma rubida uhleri* is the most important species here studied for immediate contaminative effect since the fully engorged bug tends to deposit immediately and abundantly at short intervals during the first hour after the blood meal. Furthermore, the subsequent total possible contaminative effect is greater for this species than for any other here tested. *Triatoma protracta* appears to be a less efficient environmental contaminator, witholding fecal deposits for hours, and therefore would not be as important in contaminative transmission of the parasites of Chagas' disease".

Em 1952, fizemos algumas observações semelhantes, empregando as espécies *Triatoma infestans, Panstrongylus megistus, Triatoma sordida, Triatoma vitticeps, Rhodnius prolixus* e *Rhodnius neglectus* (então *Rhodinus* sp.) nas fases de adulto e de "ninfa" a não ser no caso do *T. vitticeps,* em que foram usadas apenas formas ninfais.

---

* Chefe da Secção de Inquéritos e Trabalhos de Campo, Divisão de Estudos de Endemias, Instituto Oswaldo Cruz e do Centro de Estudos e Profilaxia de Moléstia de Chagas, I.O.C., Bambuí, Minas.

Recebido para publicação a 15 de Outubro de 1955.

QUADRO 1

TRIATOMA INFESTANS — 9 machos (M), 11 fêmeas (F) e 20 ninfas (N), alimentados em frango, de 11 a 17 de julho de 1952. Temperatura ambiente entre 20° e 24° C durante as 3 horas de observação.

T. INFESTANS	SUCÇÃO		TEMPO, EM MINUTOS, EM QUE FORAM EMITIDAS DEJEÇÕES APOS O TÉRMINO DA SUCÇÃO															
			Dejeções:															
	Tempo (minutos)	Número de interrupções	1.ª	2.ª	3.ª	4.ª	5.ª	6.ª	7.ª	8.ª	9.ª	10.ª	11.ª	12.ª	13.ª	14.ª	15.ª	16.ª
M	16	0	0	26	40	51	66	71	81	96	111	148	159	163				
M	18	0	0	15	28	69	97	168										
M	17	0	7	11	24	38	48	60	65	130								
M	18	0	22	50	65	80	105	113	122									
M	20	2	0	15	22	30	45	59	62	69	75	92	103	107	120	137	169	
M	8	0	32	145	162	176												
M	12	2	2	13	21	54	60	101	113	122	154	180						
M	5	2	0	13	17	21	22	28	37	44	54	56	61					
M	6	0	28	77	95	125	132	172										
F	15	2	0	20	36	48	57	68	100	119								
F	18	2	0	33	45	51	62	72	107	168								
F	20	2	0	30	60													
F	17	0	12	20	35	43	62	73										
F	20	2	3	17	22	38	44	69	78	95	124	160						
F	14	0	29	45	62	122												
F	7	1	86	114	170													
F	6	0	0	5	12	19	24	29	49	64	76	91	94	97	102	128	132	148
F	15	0	0	9	35	55	59	85	141									
F	7	0	0	10	30	39	75	97	124	176								
F	14	1	19	35	46	69	83	106										
N	20	2	5	40	43	50	60	64	74	86	103	120	145					
N	14	1	4	43	49	76	78	91	112	121								
N	13	1	64															
N	15	0	0	77	113													
N	24	2	6	21	42	47	58	66	76	101	104	117	126	141	160	166		
N	25	2	6	27	46	66	109	113	126	150								
N	12	0	36	62	72	97	112											
N	15	1	0	55	68	77	127	135										
N	23	3	27	29	59	64	82	114										
N	13	0	27	48	56	68	80	96	121	132	140	168						
N	14	0	11	46	49	64	86	94	113	147	159							
N	13	0	62	78	95	138												
N	18	1	27	47	77													
N	27	2	28	43	90	150												
N	17	1	14	45	66	75	114	120	133	145								
N	23	0	55	100	119													
N	16	0	23	36	56	74	139											
N	10	1	18	95	142													
N	14	0	26	41	123													
N	20	2	8	35	55	65	85	117	130	145	154	167	177					

QUADRO 2

PANSTRONGYLUS MEGISTUS — 6 machos (M), 10 fêmeas (F) e 12 ninfas (N), alimentados em pombo, de 30 de julho a 2 de setembro de 1952. Temperatura 22° a 25° C.

P. MEGISTUS	SUCÇÃO		TEMPO, EM MINUTOS, EM QUE FORAM EMITIDAS DEJEÇÕES APOS O TÉRMINO DA SUCÇÃO									
	Tempo (minutos)	Número de interrupções	Dejeções:									
			1.ª	2.ª	3.ª	4.ª	5.ª	6.ª	7.ª	8.ª	9.ª	10.ª
M	26	0	36	76								
M	7	0	90									
M	10	0	7	20	74	97						
M	16	0	91									
M	15	0	46									
M	18	0	6									
F	15	0	2	55	100							
F	12	0	7	41	56	116						
F	33	3	0	12	32	87	107					
F	12	0	0	86	98							
F	14	1	0	21	50							
F	18	1	0	23	163							
F	40	0	21	44	166							
F	32	2	18									
F	21	0	2	6	16	36	66	81	96	176		
F	29	0	3	8	18	28	76	78				
N	16	0	15	45	63	120	192					
N	15	0	8	66								
N	18	0	5	45	65	70	92	114	139	148	163	175
N	34	0	50	132								
N	34	0	5	10	45	110	131					
N	23	0	2	35	65	133						
N	30	0	12	53	93	156						
N	20	0	5	17	38	103						
N	48	0	37	60	83	103						
N	12	0	7	35	55							
N	24	0	2	25								
N	45	2	0	42								

QUADRO 3

TRIATOMA SORDIDA — 13 machos (M) e 11 ninfas (N) e *TRIATOMA VITTICEPS* — 11 ninfas (N), alimentados em pombo, de 1 a 14 de agôsto de 1952. Temperatura 21,5° a 23,5° C.

T. SORDIDA	SUCÇÃO		TEMPO, EM MINUTOS, EM QUE FORAM EMITIDAS DEJEÇÕES APOS O TÉRMINO DA SUCÇÃO										
			Dejeções:										
	Tempo (minutos)	Número de interrupções	1.ª	2.ª	3.ª	4.ª	5.ª	6.ª	7.ª	8.ª	9.ª	10.ª	11.ª
M	35	1	9	3	9	26	51						
M	17	0	1	28	56	69							
M	11	0	1	5	68	73	92	132					
M	13	0	2	5	7	10	17	35	58	47	56	62	78
M	18	0	0	4	84								
M	25	2	77	94									
M	8	0	1	18	63								
M	15	0	2	36	151	160	175						
M	22	0	8	16	56	68							
M	27	4	18										
M	13	2	2	15									
M	19	2	7	12									
M	16	0	0										
N	12	0	5	73									
N	12	0	10	30	70	90	115	140					
N	28	0	13	28	38	50	76	110	148	178			
N	21	0	6	13	26	40	83						
N	21	0	23	45	71	94	119						
N	22	0	2	43	60	77	90						
N	39	0	21	31	43	79	136						
N	30	0	16	31	51	56	85	95	102	119	154	164	
N	25	0	13	62	71	95	118	146	168				
N	14	0	4	26	83	87	125						
N	18	0	6										
T. VITTICEPS													
N	31	0	10	20	52	110	132						
N	12	0	3	147									
N	20	0	8	55	110	155							
N	40	0	5	55	67	98	112	148	172	178			
N	50	0	20	35	37	67	95	138	166				
N	22	0	18	26	58	113	130	136	158				
N	23	0	12	19	48	95	108	123	158				
N	45	1	4	7	13	30	93	111	121	134	144	175	
N	20	0	12	30	40	57	82	112	148				
N	22	0	7	23	41	73	118	163					
N	10	0	19	36	60	81	119						

QUADRO 4

RHODNIUS PROLIXUS — 2 machos (M), 8 fêmeas (F) e 10 ninfas (N) e *RHODNIUS NEGLECTUS* — 2 machos (M), 8 fêmeas (F) e 10 ninfas (N), alimentados em frango, de 9 a 15 de julho de 1952. Temperatura ambiente 17º a 23º C.

	SUCÇÃO		TEMPO, EM MINUTOS, EM QUE FORAM EMITIDAS DEJEÇÕES APOS O TÉRMINO DA SUCÇÃO																										
R. PROLIXUS	Tempo (minutos)	Número de de interrupções	Dejeções:																										
			1.ª	2.ª	3.ª	4.ª	5.ª	6.ª	7.ª	8.ª	9.ª	10.ª	11.ª	12.ª	13.ª	14.ª	15.ª	16.ª	17.ª	18.ª	19.ª	20.ª	21.ª	22.ª	23.ª	24.ª	25.ª	26.ª	27.ª
M	5	0	21	33	67	71	75	82	131	150	169																		
M	10	3	0	2	11	16	20	26	33	40	48	60	81	100	129														
F	29	5	0	4	7	10	12	15	17	26	32	34	37	38	40	45	54	63	73	95	116	132	150						
F	12	7	0	7	14	17	18	21	23	25	38	44	51	61	68	82	91	102	110	117	130	161	180						
F	15	2	0	2	6	11	14	15	20	22	23	24	34	46	59	66	94	110	124	174									
F	10	1	1	4	6	8	9	36	65	93	144																		
F	5	1	0	28	53	69	86	117	146	149																			
F	13	2	1	8	12	14	17	19	26	30	33	43	57	59	69	85	109												
F	17	11	0	7	9	21	23	37	52	72	66	68	80	93	97	105	111	122	142	180									
F	7	1	5	18	33	51	105																						
N	10	0	9	15	19	30	42	46	52	56	67	75	91	97	102	110	145	145	147	155									
N	15	1	9	17	45	58	65	83	88	107	112	126	128	139	139	149	154	165											
N	17	4	11	17	22	38	48	53	72	91	101	123	134	145	151	160	171												
N	11	0	0	18	30	43	59	79	99	115	138	152	167																
N	16	2	0	5	31	43	54	75	99	110	132	147	155	172															
N	16	1	0	17	30	47	57	70	90	124	166																		
N	15	4	1	14	27	38	57	70	104																				
N	13	0	17	19	35	67	77	103	123	136	153	160																	
N	32	3	0	26	37	61	81	98	102	110	117	124	132	142	154	178													
N	17	1	1	3	4	5	8	13	15	23	25	28	33	37	40	45	48	52	70	90	110	125	132	165	167	177			
R. neglectus																													
M	21	2	0	9	18	24	36	60	92	98	125	159	179																
M	13	1	14	40	47	76	94	108	171																				
F	14	1	1	81																									
F	15	1	0	1	20	34	59	65	73	90	125																		
F	16	1	45	85	94	114	119																						
F	14	0	38	137																									
F	21	1	1	12	22	28	32	38	45	56	60	65	77	87	100	115	138	153	168										
F	17	1	10	50	57	69	73	107	111	114	137	144	151	172															
F	14	0	36	42	103	118	128	145	180																				
F	13	1	52	69	97	102	115	136	166	179																			
N	22	0	2	9	18	24	31	36	39	88	109	142	152	155															
N	13	1	52	57	61	76	88	93	98	104	110	137	160																
N	23	2	9	17	23	35	48	71	78	90	94	99	120	127	137	147	172												
N	30	1	0	13	15	22	64	87	97	108	135	156																	
N	25	1	0	21	64	69	98	100	102	120	137	148	159	172	179														
N	6	1	4	12	15	17	20	23	26	30	35	38	51	57	60	69	88	92	97	110	117	123	130	135	141	146	153	162	167
N	28	2	0	4	11	33	51	69	74	88	97	107	139																
N	19	0	19	36	66	78	118																						
N	29	4	0	19	23																								
N	17	2	12	30	57	74	152	177																					

Os insetos eram colocados individualmente dentro de tubos de vidro fechados com gaze e postos em contacto com frango ou pombo, anotando-se o tempo que levavam para sugar e o número de interrupções ocorridas no ato, motivadas, em geral, por movimentação do animal sugado. Permitia-se ao inseto encher-se de sangue o mais completamente possível, embora nem sempre isso acontecesse. Terminada a sucção, era cada exemplar transferido para uma placa de Petri, onde era mantido em observação durante três horas, sendo então anotado o tempo, contado após o término da refeição, que levava emitindo excreções (negras, amarelas ou hialinas), bem como o número das emissões. Tôdas as observações foram feitas durante o dia, sendo realizadas parte em Bambuí (*T. infestans, R. prolixus* e *R. neglectus*) e parte no Rio de Janeiro (espécies restantes). Tomava-se nota da temperatura ambiente no início da picada e no fim do período de observação de cada inseto. Os quadros ns. 1 a 4 contêm os dados principais relativos às condições dessas observações aos seus resultados. As medidas de tempo são dadas em minutos, tendo sido arredondadas para números inteiros; a anotação 0 na coluna reservada à primeira defecação significa que esta teve lugar durante ou imediatamente após o término da sucção.

Da análise dos referidos quadros, resultou a obtenção dos seguintes dados em relação à freqüência e intervalo das defecações verificadas em cada grupo de insetos até 3 horas depois de sugarem.

Espécies e exemplares		*Percentagem dos indivíduos que defecaram durante ou logo após a sucção*	*Número de defecações*		
			Mínimo	*Máximo*	*Médio*
R. prolixus	2 machos	50,0	9	13	11,0
”	8 fêmeas	62,5	5	21	14,4
”	10 ninfas	40,0	7	24	13,7
T. infestans	9 machos	44,4	4	15	8,8
”	11 fêmeas	54,4	3	16	7,2
”	20 ninfas	10,0	1	14	6,2
R. neglectus	2 machos	50,0	7	11	9,0
”	8 fêmeas	12,5	2	17	7,7
”	10 ninfas	40,0	3	27	11,3
P. megistus	6 machos	0	1	4	1,7
”	10 fêmeas	40,0	1	8	3,9
”	12 ninfas	8,3	2	10	3,9
T. sordida	13 machos	23,1	1	11	3,8
”	11 ninfas	0	1	10	5,4
T. vitticeps	11 ninfas	0	2	10	6,2

Considerando em conjunto os resultados verificados para os grupos de barbeiros de cada espécie, encontramos que as percentagens de indivíduos que defecaram durante ou imediatamente após o repasto — circunstância de grande significação para a transmissão do *Schizotrypanum cruzi* — foram, em ordem decrescente, de 50,0% em 20 *R. prolixus,* 30,0% em 40 *T. infestans,* 30,0% em 20 *R. neglectus,* 22,7% em 28 *P. megistus,* 12,5% em 24 *T. sordida* e 0% em 11 *T. vitticeps.*

Levado em conta o estádio evolutivo, observou-se que a defecação no ato ou imediatamente em seguida à picada ocorreu com maior freqüência nos adultos do que nas ninfas, e isto em todos os casos, com exceção do *R. neglectus,* em que se verificou o contrário, e do *T. vitticeps,* em que faltaram observações de insetos adultos, não havendo, porém, defecado no momento nenhuma das ninfas; quanto ao sexo, as fêmeas defecaram mais prontamente que os machos em *T. infestans, P. megistus* e *R. prolixus,* tendo ocorrido o inverso em *R. neglectus.*

Com respeito ao número médio de defecações ocorridas dentro do prazo de 3 horas após a sucção, foi êle de 13,7 em *R. prolixus,* 9,6 em *R. neglectus,* 7,1 em *T. infestans,* 6,2 em *T. vitticeps,* 4,5 em *T. sordida* e 3,4 em *P. megistus.*

Ainda dos quadros apresentados, apuraram-se os seguintes achados sôbre a duração do tempo de sucção em cada um dos grupos de insetos observados:

Espécies e exemplares		*Duração da picada (em minutos)*			*Média para a espécie*
		Mínima	*Máxima*	*Média*	
R. prolixus	2 machos	5	10	7,5	
"	8 fêmeas	5	29	13,5	14,2
"	10 ninfas	10	32	16,2	
T. infestans	9 machos	5	20	13,3	
"	11 fêmeas	6	20	13,9	15,5
"	20 ninfas	10	27	17,3	
R. neglectus	2 machos	13	21	17,0	
"	8 fêmeas	13	21	15,5	18,5
"	10 ninfas	6	29	21,2	
T. sordida	13 machos	8	35	18,4	
"	11 ninfas	12	39	21,9	20,0
P. megistus	6 machos	7	26	15,3	
"	10 fêmeas	12	40	22,6	22,7
"	12 ninfas	12	45	26,6	
T. vitticeps	11 ninfas	10	50	26,8	26,8

Relativamente à rapidez com que os indivíduos das espécies em causa exerceram o hematofagismo, verifica-se que o tempo médio que durou a sucção foi de:

14,2 minutos em *R. prolixus*
15,5 " " *T. infestans*
18,5 " " *R. neglectus*
20,0 " " *T. sordida*
22,7 " " *P. megistus*
26,8 " " *T. vitticeps*

Quanto à última circunstância levada em conta nas presentes observações, qual seja a da freqüência das interrupções da sucção nas diversas espécies de triatomíneos, deduz-se dos dados oferecidos nos quadros 1 a 4:

	N.º de interrupções da picada							*Percentagem de 0 interrupções*
	0	*1*	*2*	*3*	*4*	*5*	*+ de 5*	
R. prolixus	4	6	3	2	2	1	2	20,0%
R. neglectus	4	11	4	—	1	—	—	20,0%
T. infestans	19	8	12	1	—	—	—	47,5%
T. sordida	19	1	3	—	1	—	—	79,2%
P. megistus	23	2	2	1	—	—	—	82,1%
P. vitticeps	10	1	—	—	—	—	—	90,9%

Não obstante o reduzido número de observações empreendidas, que parecem ser as primeiras para as espécies estudadas, elas fornecem algumas indicações de interêsse para a avaliação da maior ou menor eficácia dos vetores da infecção esquizotripanósica, ou, pelo menos, sugerem a investigação mais aprofundada dos fatôres envolvidos na transmissão do protozoário e que nela poderão influir de modo mais ou menos direto.

Como é óbvio, as espécies mais aptas a eliminar excreções infectantes no ato da picada são as que maiores probabilidades deverão oferecer para a contaminação. Uma outra circunstância que naturalmente tende a favorecer a esta à a freqüência das defecações nos primeiros minutos que se seguem à refeição, quando o hematófago ainda se poderá encontrar nas vizinhanças do vertebrado espoliado.

À luz dos resultados ora descritos, pode considerar-se que *Rhodnius prolixus* sobressaiu, entre as espécies experimentadas, como vetor dotado de condições mais privilegiadas para realizar o mecanismo contaminativo de transmissão do *S. cruzi*. Em primeiro lugar, foi a espécie em que se verificou com maior freqüência a defecação durante o tempo de contacto imediato com o animal. Seguiram-se-lhe o *R. neglectus,* o *T. infestans* e o *P. megistus,* êstes últimos dois grandes transmissores da esquizotripanose humana. Com relação ao outro fator de importância para a transmissão, foi o *R. prolixus* o triatomíneo em que se observou o maior número de defecações após a picada, seguindo-se-lhe, ainda, o *R. neglectus* e o *T. infestans*. Por fim, o *R. prolixus* foi o barbeiro que apresentou menor tempo médio de duração da sucção e bem assim aquêle que manifestou maior inclinação para interromper a picada, sob a influência dos movimentos do animal espoliado, condições estas que parecem melhor atender à conservação da espécie.

Entretanto, êstes resultados são meramente sugestivos, em vista não só pequeno número de indivíduos, como pela heterogeneidade dos grupos de insetos das diferentes espécies, empregados nestas observações.

Conclusões mais seguras a respeito do assunto serão provàvelmente alcançadas se se realizarem experiências semelhantes e numerosas, em condições mais aproximadas das naturais, fazendo os hemípteros sugar à noite e durante o verão, época em que, como se sabe, é maior a transmissibilidade da infecção, a julgar pelo aparecimento mais freqüente dos casos agudos de doença de Chagas nas regiões onde grassa a endemia.

RESUMO

São relatadas as observações a respeito dos hábitos de defecação e de sucção em 6 espécies de hemípteros hematófagos.

O quadro abaixo reúne os resultados mais gerais obtidos, apreciados em conjunto:

Espécies de exemplares utilizados	*% de insetos que defecaram durante ou logo após a picada*	*N.º médio de defecações nas 3 primeiras horas após o repasto*	*Duração média de sucção (minutos)*	*% de insetos que sugaram sem interromper a picada*
R. prolixus 2 machos 8 fêmeas 10 ninfas	50,0	13,7	14,2	20,0
R. neglectus 2 machos 8 fêmeas 10 ninfas	30,0	9,6	18,5	20,0
T. infestans 2 machos 11 fêmeas 20 ninfas	30,0	7,1	15,5	47,5
P. megistus 6 machos 10 fêmeas 12 ninfas	22,7	3,4	22,7	82,1
T. sordida 13 machos 11 ninfas	12,5	4,5	20,0	79,2
T. vitticeps 11 ninfas	0	6,2	26,8	90,9

De modo geral, a capacidade de defecar no ato da picada mostrou-se diretamente proporcional ao número de defecações (nas três primeiras horas) e à freqüência das interrupções da picada, e inversamente proporcional ao tempo de duração da sucção. Os barbeiros adultos se mostraram mais aptos a defecar no ato da picada do que em fase de ninfa, as fêmeas mais do que os machos.

Das espécies observadas, o *R. prolixus* foi a que melhores condições demonstrou para realizar a contaminação fecal do hospedeiro vertebrado.

Sugere-se que um estudo mais aprofundado sôbre a eficácia contaminativa dos diversos transmissores do *S. cruzi* seja feito de preferência no verão e à noite, em zonas onde grassa endêmicamente a doença de Chagas.

REFERÊNCIAS

Chandler, A. C. — 1949
Introduction to Parasitology.
John Wiley & Sons, Inc., New York.

Dias, E. & Chandler, A. C. — 1949
Moléstias humanas transmitidas por hemípteros sugadores.
(Human diseases transmitted by parasitic bugs).
(Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 47: 403-422.

Wood, S. F. — 1951
Importance of feeding and defecation times of insect vectors in transmission of Chagas' diseases.
Journal of Economic Entomology 44 (1): 52-54.

Sôbre a histogênese do mioblastoma de células granulares do apêndice*

Apresentação de um caso

Lauro Rubens Wanick
Instituto Oswaldo Cruz

(Com 7 figuras no texto)

Entidade das mais discutidas quanto à histogênese, o mioblastoma de células granulares tem, no entanto, sua morfologia microscópica perfeitamente definida. Abrikossof (1), em 1926, foi quem primeiro estabeleceu sua individualidade na base de 5 casos, reportando, posteriormente, casos adicionais (2). Desde então, têm sido divulgados 3 centenas dêles. Dêsses, contam-se 10 com localização múltipla, segundo Cave (3), situados em órgãos que não o apêndice vermiforme. Sòmente encontramos referências na literatura, de localizações apendiculares, em citação por Stout, de duas ocorrências, ambas de tumores solitários.

No presente trabalho, apresentamos um caso de mioblastomas múltiplos do apêndice vermiforme.

Várias são as teorias propostas para explicar a histogênese do mioblastoma: a) Fust e Custer (4) consideram que as suas células sejam provenientes de céluas neurais, provàvelmente schwânicas. Êsses autores encontraram células granulares na intimidade de nervos situados em locais um pouco afastados da massa tumoral. Trabalho mais recente de autoria de Bangle (5) sustenta a teoria neural; b) Pearse (6) admite, na base de estudo histoquímico e morfológico, sua proveniência de fibroblastos que acumulariam substância contendo lipóide; c) Leroux e Delarue, citados por Pearse, exprimem a hipótese de que as células granulares provenham de histiócitos que hajam fagocitado substância desconhecida; d) Gray e Gruenfeld (7) propõem a teoria pela qual as células tumorais resultariam da degeneração de fibras musculares estriadas; e) Abrikossof (1) (2) explica a origem do mioblastoma como um processo regenerativo da fibra muscular estriada após injúria, pois é sabido que essas fibras mostram-se granulares nos processos de regeneração que se seguem a um traumatismo.

---

* Recebido para publicação a 15 de Outubro de 1955.

Masson, referido por Bangle (5), é favorável à idéia de que tumores de células granulares do trato gastro-intestinal, semelhando o mioblastoma, tenham origem em fibras musculares lisas.

OBSERVAÇÃO

M.B.D., 34 anos, parda, casada, brasileira, foi atendida de urgência pelo serviço médico do I.A.P.E.T.C., de Niterói, com defesa abdominal, dor localizada no fossa ilíaca direita, hipertermia, náuseas, vômitos e diarréia. Referia dores abdominais há três dias com náuseas e febre, sendo que há um mês sentiu fortes dores, por uma hora, nessa região. Os exames complementares foram sugestivos de apendicite aguda, realizando-se a apendicectomia.

Aspecto macroscópico — Examinada a peça, constatou-se a presença de dois nódulos firmes: um no interior do órgão, de forma parabolóide, medindo cêrca de 1 cm de diâmetro no sentido do seu eixo longitudinal, esbranquiçado e homogêneo ao corte, quase ocluindo sua luz, deixando ùnicamente pequeníssimo pertuito; o outro no meso-apêndice, globóide, de 0,5 cm aproximadamente de diâmetro. Êste foi seccionado em dois fragmentos. O apêndice foi seccionado na sua totalidade, seus segmentos submetidos a estudo histológico.

Aspecto microscópico — Tumor n.º 1. Cortes transversais feitos em sua parte central, corados pela hematoxilina-eosina, mostram-no situado na submucosa, recalcando a mucosa contra a parede oposta, deixando livre apenas pequena abertura. É composto por células que se agrupam em dois aspectos principais: faixas e ninhos (fig. 1 e 2). Estas formações são envolvidas por fibras colágenas, e dão ao tumor uma aparência turbilhonar, lembrando o leiomioma. Os agrupamentos sob a forma de faixas apresentam células volumosas, ovóides ou fusiformes, unidas uma às outras como o fazem as fibras musculares lisas (fig. 3 e 4); o citoplasma tem limite nítido e contém grânulos eosinófilos finos e grossos, sendo que, entre os grânulos, o citoplasma é desprovido de estrutura; o núcleo é ovóide ou fusiforme, central ou ligeiramente excêntrico, com um ou dois nucléolos, às vêzes três. As células que formam os ninhos são redondas, ovóides ou poliédricas e de diferentes diâmetros. Seu núcleo é redondo ou ovóide. Os agrupamentos em faixas e ninhos dão a impressão de feixes musculares aberrantes cortados longitudinal, oblíqua ou transversalmente (fig. 2). Em pequena zona, onde as fibras da camada circular da túnica muscular mostram-se bem escassas, observamos a presença de inúmeras células granulares que se entremeiam com fibras musculares normais, parecendo que aí se origina o tumor. As células granulares que se encontram na intimidade da túnica muscular são fusiformes, semelhando fibras musculares lisas, diferindo destas tão-sòmente por serem mais volumosas. Em certas zonas, há infiltração de leucócitos polimorfonuclear eosinófilos e linfócitos. Apesar da acurada observação das células do plexo mientérico de Auerbach, não notamos

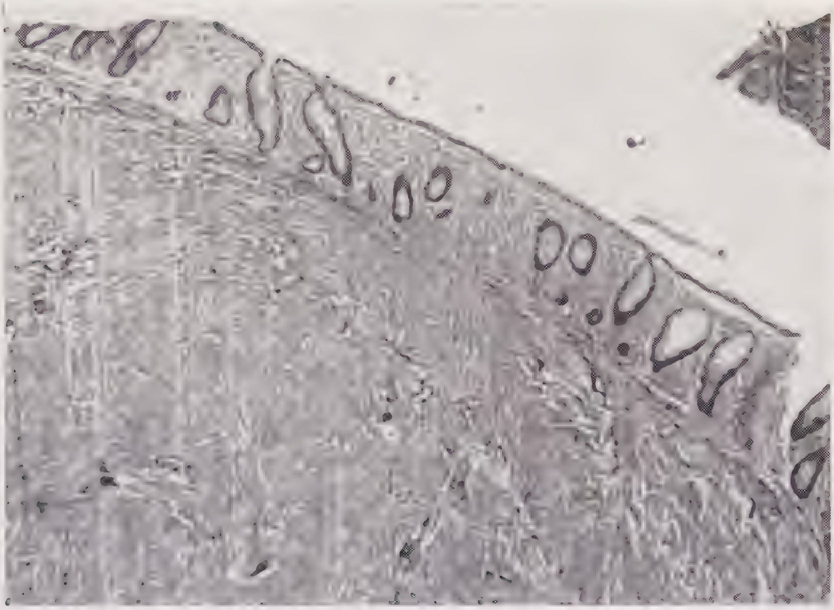


Fig. 1 — Corte do apêndice vermiforme mostrando a localização do tumor na sub-mucosa (Masson — 35×).

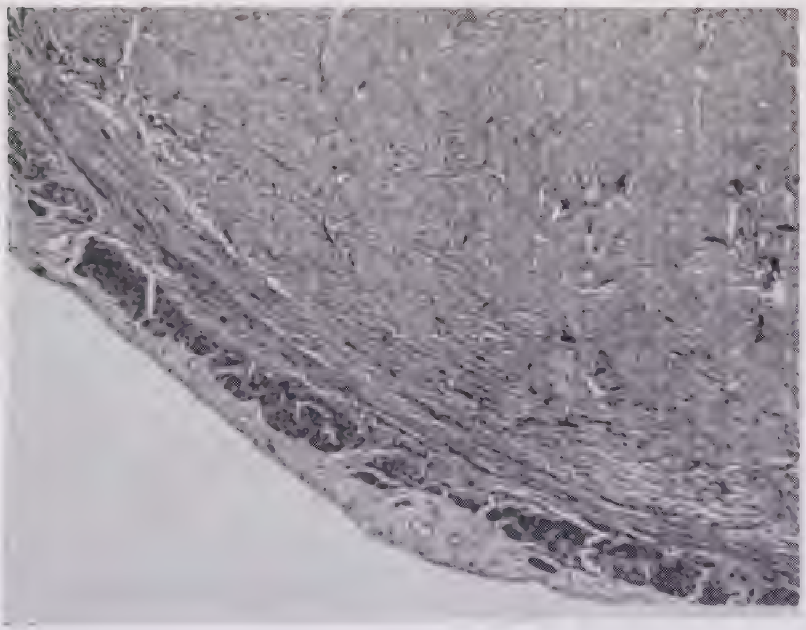


Fig. 2 — Nota-se a disposição das células em grupos com aspectos de faixas e ninhos, dando a impressão de feixes musculares cortado longitudinal, obliqua ou transversalmente. (Masson 35×).

qualquer anormalidade .No meso-apêndice, próximo ao tumor, encontram-se algumas células granulares dispostas em grupos esparsos, mostrando alguns dêles relação de contigüidade com vasos e nervos. Nos vários cortes examinados, sòmente encontramos uma figura de mitose.

Tumor n.º 2 — Primeiro fragmento: em pequeno aumento, vê-se a massa tumoral emergindo da túnica muscular, envolvida no seu início pelos feixes longitudinais desta túnica, que apresentam algumas células granulares. Células semelhantes, formando uma espécie de pedúnculo, ligam a camada musculo-circular ao conjunto do tumor. Em outros cortes, observam-se as fibras musculares lisas que avançam em feixes ou isoladas para o meso, ocupando sua parte justa apendicular; algumas destas fibras chegam a penetrar a massa tumoral. Segundo fragmento: é globóide, tendo em sua parte central um feixe de fibras colágenas. O aspecto das células é o mesmo já referido na descrição anterior.

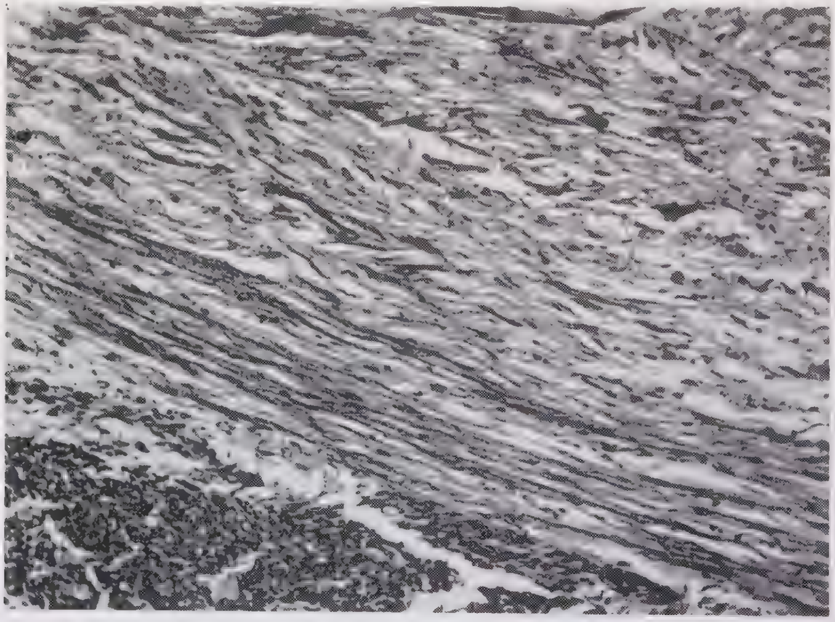


Fig. 3 — Observa-se a camada circular da túnica muscular do apêndice com inúmeras células tumorais entremeadas com as fibras lisas normais.

Em nenhum corte de qualquer dos tumores observamos evidência de malignidade.

Os outros segmentos do apêndice mostram zonas de infiltração por leucócitos polimorfonuclear eosinófilos, linfócitos, células plasmáticas, histócitos e mastócitos.

Interessados em contribuir para o conhecimento da morfologia das células dêste interessante blastoma e para sua histogênese, praticamos as técnicas abaixo discriminadas:

Van Gieson e tricrômico de Masson: as células granulares tomaram a mesma coloração das fibras musculares lisas.

Hematoxilina férrica de Mallory e hematoxilina ácida fosfotúgstica de Mallory: não evidenciaram estriação transversal própria da fibra muscular estriada.

Sudan III: negativo.

Ácido periódico-Schif: os grânulos coraram-se em róseo.

Weil (coloração para mielina): negativo.

Bielchowsky: èste método demonstrou a inexistência de fibras nervosas na estrutura tumoral.

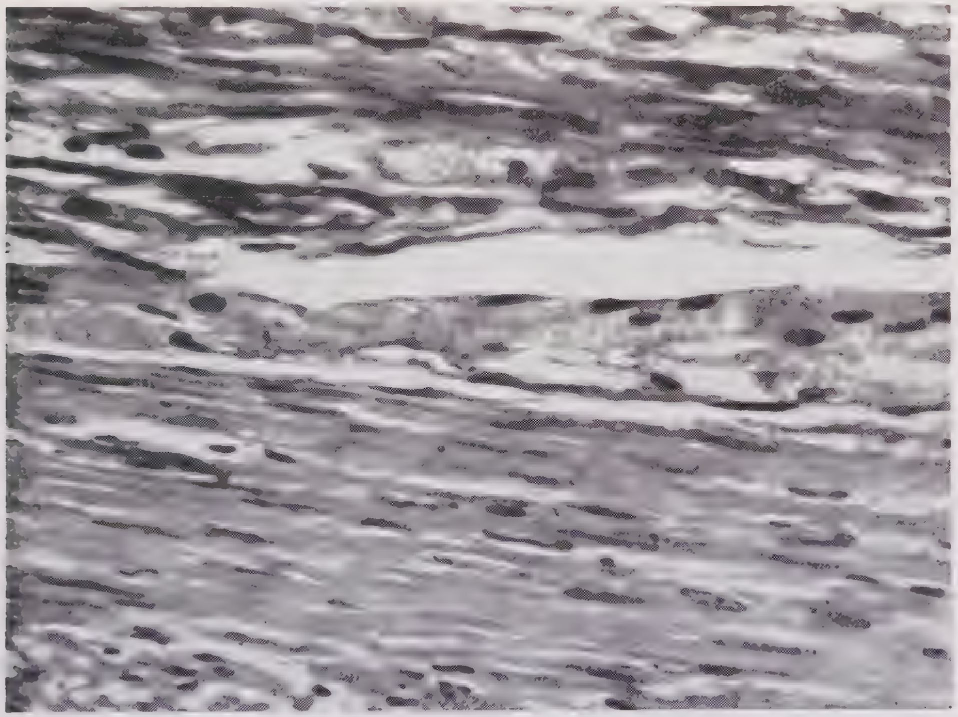


Fig. 4 — Nesta figura pode-se notar perfeitamente o aspecto fusiforme das células granulares entremeadas na camada circular da túnica muscular e o modo de união entre si. (H. & E. 540×).

Microscopia eletrônica: (fig. 7). Embora tenhamos usado uma fixação imprópria, qual a do formol, procuramos estudar a morfologia das céluas tumorais ao microscópio eletrônico. As células mostram limite nítido, semelhando membrana e os grânulos encontrados no citoplasma, de diâmetro e forma variados, dispõem-se isoladamente ou em grupos. A porção restante do citoplasma é desprovida de estrutura.

DISCUSSÃO

A presença do infiltrado inflamatório e a situação do tumor, obstruindo a luz do apêndice, explicam perfeitamente a sintomatologia da paciente.

A primitividade das presentes lesões no apêndice é sugerida pela ausência de nódulos ou tumorações na língua ou pele, locais de predileção do mioblastoma.

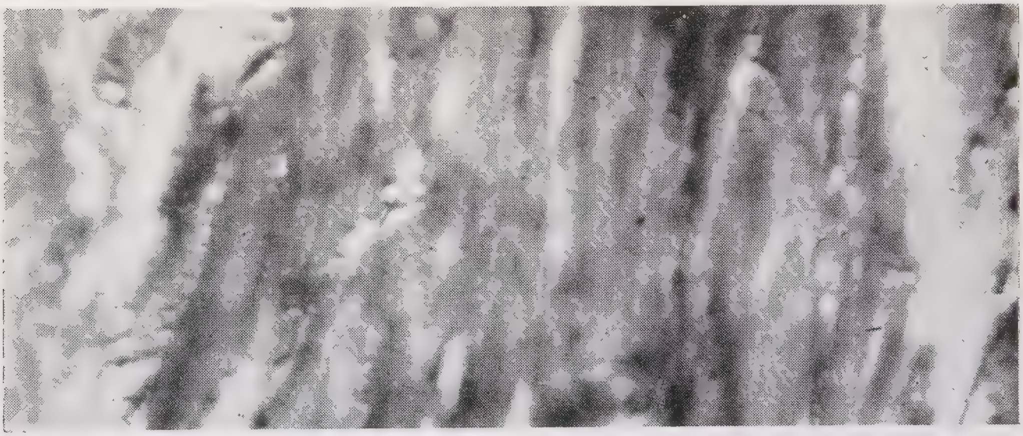


Fig. 5 — Fotografia ao microscópio eletrônico da camada circular da túnica muscular na qual se pode observar tractos claros e escuros nas ultrafibrilas. (Original 1575× total 4725×).

A observação das células granulares infiltradas entre as fibras musculares lisas deixa ver sua origem muscular pela sua forma, reação tintorial, pelo modo de união entre si, posição central do núcleo, assim como pela situação do tumor, emergindo claramente da túnica muscular (fig. 3 e 4). As técnicas especiais a que foram submetidos os cortes reforçam o pensamento do autor. Os feixes granulares mostram a disposição anárquica do leiomioma.

O achado de células granulares na vizinhança dos tumores indica um caráter infiltrante, mas a observação das células não demonstra características de malignidade.

A contribuição de maior importância que trazemos nos parece ser a observação do tumor feita ao microscópio eletrônico.

A fig. 5 representa a camada circular interna da túnica muscular (muscularis externa) do apêndice vermiforme, no qual encontramos os mioblastomas múltiplos referidos neste trabalho. Foi ela realizada pelo prof. **Hans Muth** ao microscópio eletrônico R.C.A., tipo E.M.U.-26, com preparação de 0,1 de mícron de espessura, cortada em micrótomo especial.

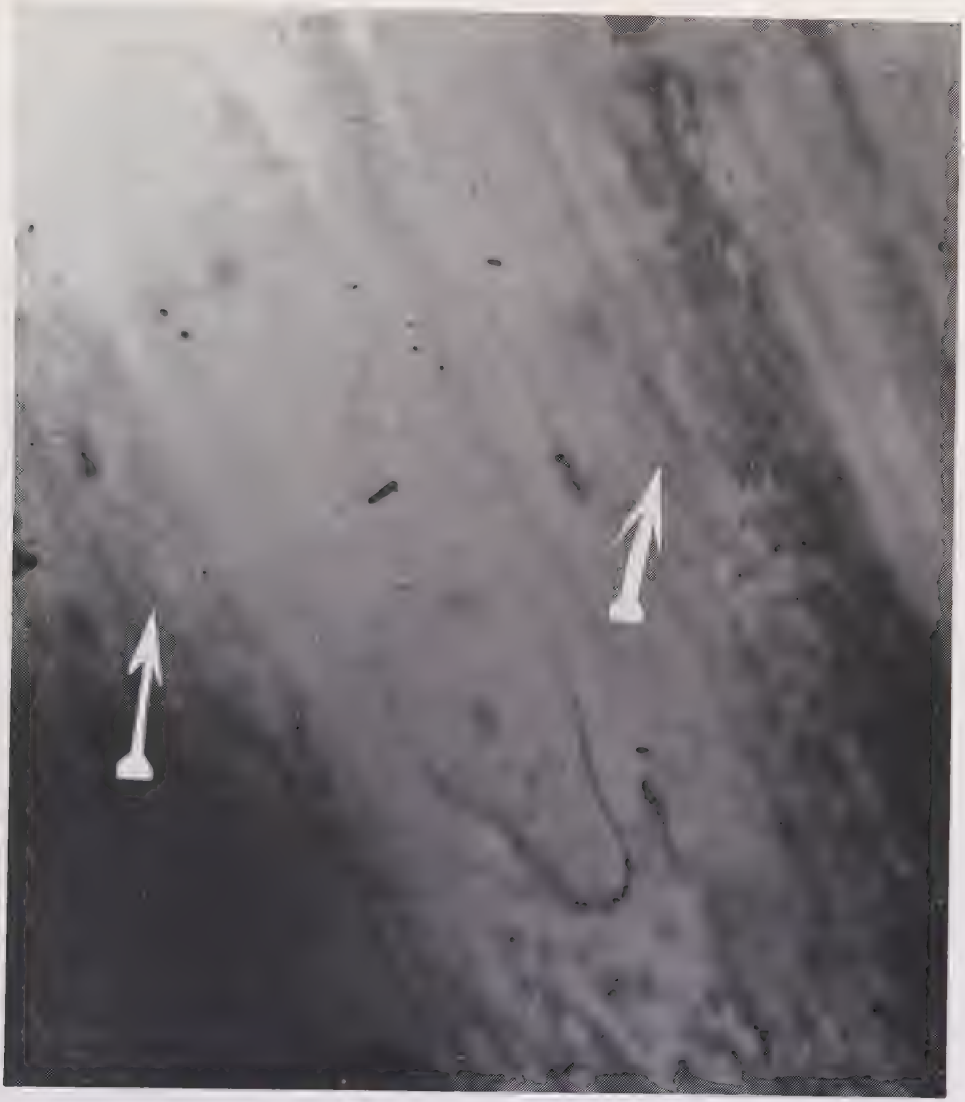


Fig. 6 — Observa-se, na parte superior e direita, ultrafibrilas típicas do músculo liso, mostrando alternância de tractos claros e escuros. No lado esquerdo, nota-se filamentos anastamosados contendo porções claras e escuras, os quais poderiam ser interpretados como ultrafibrilas em fase inicial de desorganização. (Microscópio eletrônico. Original 1575× total 4725×).

Nela vemos com clareza a existência de tractos claros e tractos escuros nas ultrafibrilas, concordando com as referências existentes na literatura recente na qual vários autores mencionam a estrutura periódica da ultrafibrila, nos músculos lisos.

Gotte e Munari (8) observaram que as ultrafibrilas dos músculos lisos, de natureza actomiosínica, são revestidas de substância homogênea com notável densidade eletrônica não regularmente disposta.

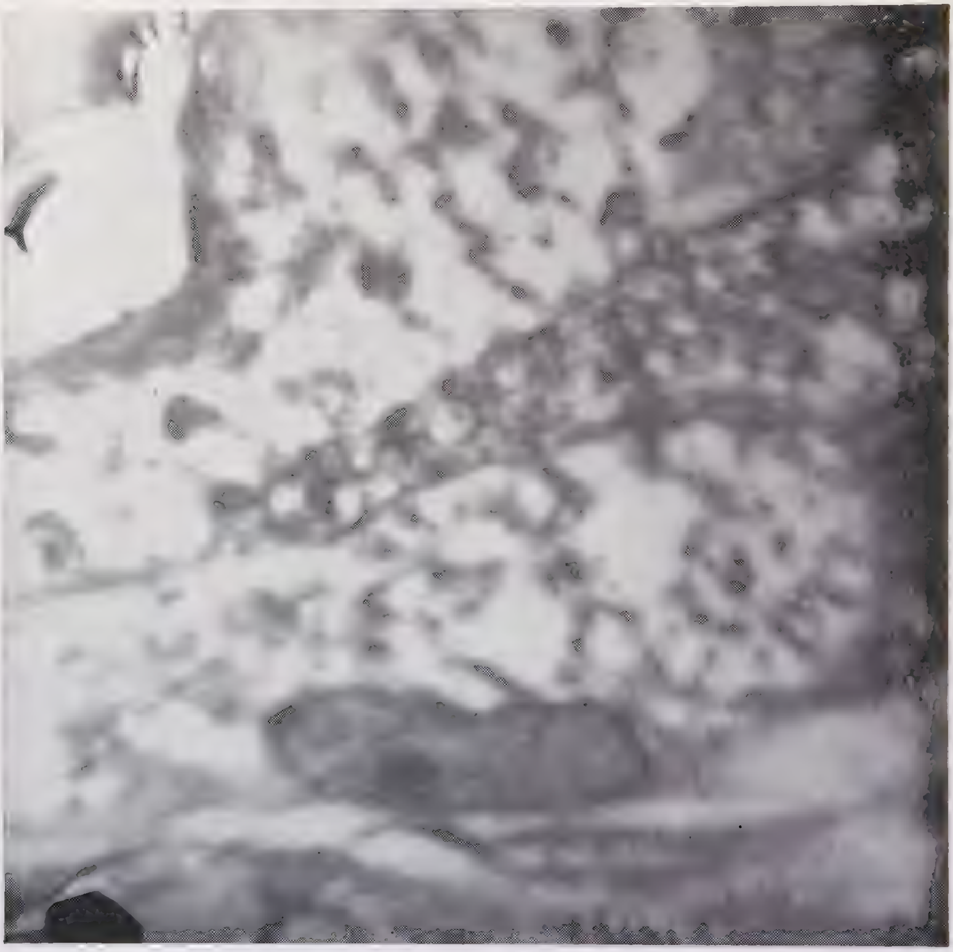


Fig. 7 — Células do mioblastoma vistas ao microscópio eletrônico. Nota-se um retículo que parece corresponder a ultrafibrilas com acentuada desorganização. (Original 1575× total 4725×).

São dotadas de um período, oscilando entre 390 a 450 Å. Tal período de identidade ou constante de repetição resulta da soma de um tracto claro e um trato escuro no mesmo filamento. Êste comportamento à permeabilidade aos raios eletrônicos ou seja, a presença de um tracto claro e um tracto escuro da qual deriva o aspecto periódico, poderia ser explicado pela disposição diferente de sais minerais Ca e Mg, ao longo da ultrafibrila, segundo a opinião de Draper e Hodge.

A figura 6 obtida pelo Dr. Hans Muth, com técnica idêntica, compreende uma porção da camada circular interna da túnica muscular do apêndice vermiforme onde existe um entrelaçamento de fibras musculares lisas típicas desta camada com células do mioblastoma. Êste campo é comparável ao que está exemplificado na fig. 3, visto ao microscópio ótico.

O estudo desta figura 6 parece-nos de grande importância para justificar a interpretação que damos aos grânulos citoplasmáticos tão típicos do mioblastoma de células granulares. Com efeito, na porção direita e superior, aparecem ultrafibrilas típicas do músculo liso, mostrando alternância de tractos claros e escuros. No lado esquerdo desta figura são vistos filamentos anastomosados, contendo, igualmente, porções claras e escuras, os quais poderiam ser interpretados como ultrafibrilas de fibras musculares lisas em fase inicial de desorganização.

A fig. 7 obtida pelo Dr. Hans Muth, no microscópio eletrônico, com técnica e ampliação idênticas à fig. 5 e 6, representa células do mioblastoma. Os grânulos citoplasmáticos, tão típicos do mioblastoma de células granulares, aí se mostram como porção componente de filamentos de trajeto caprichoso, à primeira vista, difíceis de serem compreendidos. Não representam seguramente o condrioma, além do mais porque não foi usada a fixação adequada ao estudo dêste organito celular.

Comparando, atentamente, êste retículo representado na fig. 7 com as figs. 5 e 6, somos de opinião que, talvez, correspondam a ultrafibrilas das células blastomatosas com acentuada desorganização.

Os grânulos citoplasmáticos descritos no mioblastoma de células granulares seriam — em nossa opinião, a qual é baseada na ultramorfologia da túnica muscular do apêndice vermiforme e do mioblastoma existente neste órgão — simplesmente porções componentes da ultrafibrila, notàvelmente alterada nas células blastomatosas.

Uma vez aceita esta idéia, a interpretação da fig. 4 feita com o microscópio ótico poderia ser a seguinte: em sua porção inferior são vistas fibras musculares lisas componentes da camada circular interna da túnica muscular. Uma estriação ocasional destas fibras pode ser vislumbrada em alguns pontos. Na porção média da fig. 4, nota-se um feixe de células do mioblastoma ìntimamente entremeado com a musculatura do apêndice. Em várias destas células, o citoplasma mostra alternância de tractos escuros e tractos claros, possìvelmente correspondendo a miofibrilas do blastoma com alterações estruturais que permitem a sua identificação, mesmo ao microscópio ótico.

RESUMO E CONCLUSÕES

Um caso de mioblastoma de células granulares do apêndice vermiforme por nós observado forneceu dados interessantes relacionados com a sua histogênese, constituindo êsse o principal motivo da presente publicação.

A sua localização pode ser determinada com precisão, estando situado nas paredes do apêndice vermiforme, ao nível da camada circular de fibras musculares lisas da túnica muscular.

As células do tumor mostram continuidade com as fibras musculares lisas daquela camada, sendo gradual a passagem entre as estruturas de fibras musculares lisas normais, naquela camada, e o tumor.

Pela sua parte externa, o tumor, observado em cortes adequados, é sempre limitado pela camada longitudinal de fibras musculares lisas da túnica muscular do apêndice vermiforme, o que exclui topogràficamente a possibilidade de conexão entre o tumor e fibras musculares estriadas.

Topogràficamente, trata-se de um tumor localizado nìtidamente na túnica muscular do apêndice vermiforme, mostrando conexão histológica íntima com as fibras musculares lisas da camada circular ou interna da túnica muscular.

Por outro lado, a microscopia eletrônica permitiu distinguir detalhes que sugerem uma relação entre as granulações encontradas no citoplasma das células do mioblastoma, quando observado ao microscópio ótico, e as miofibrilas. Os dados colhidos indicam que os grânulos representam tractos escuros das ultrafibrilas, que se tornariam aparentes em virtude de modificações patológicas daquelas estruturas em células blastomatosas derivadas de fibras musculares lisas.

Na elaboração do presente trabalho, obtivemos a preciosa colaboração do Prof. Hans Muth, chefe da seção de Microscopia Eletrônica, e a inestimável orientação do Prof. Dr. Magarinos Torres e do Dr. Eitel Duarte, chefe da Divisão de Patologia e Seção de Anatomia Patológica, respectivamente, aos quais muito agradecemos.

BIBLIOGRAFIA

1. Abrikossoff, A.: Über Myome ausgehend von der quergestreiften wilkürlichen Muskulatur. Virchows Arch. f. path. Anat., 260: 215-233, 1926.
2. Abrikossoff, A.: Weitere Untersuchungen über Myoblastenmyome. Virchows Arch. f. path. Anat., 280: 723-740, 1931.
3. Cave V. G., Kopf A. W., Vegas F. K.: Multiple Myoblastomas in Children. Arch. Dermat. 71: 579-586, 1955.
4. Fust J.A., Custer, R.P.: On the Neurogenesis of So-Called Granular Cell Myoblastoma. Am. J. Clin. Path., 19: 522-535, 1949.
5. Bangle, R. Jr.: A Morphological and Histochemical Study of the Granular Cell Myoblastoma, Cancer 5: 950, 1952.
6. Pearse, A.G.E.: The Histogenesis of Granular-Cell Myoblastoma (? Granular-Cell Perinueral Fibroblastoma). J. Path. & Bact. 62: 51-362, 1950.
7. Gray, S.H., and Gruenfeld, G.E.: Myoblastoma, Am. J. Cancer, 30: 699, 1937.
8. Gotte L., e Munari P. F.: Sulla Morfologia Submicroscopia Del Muscolo Striato Scheletrico e Liscio Nel Bos Taurus. Bollettino Della Società Italiana Di Biologia Sperimentale. 29: 5, 1953.

Estudos anatômicos e histológicos sôbre a subfamília Triatominae (Heteroptera, Reduviidae)*

V parte: Anatomia do testículo e espermiocitogênese do *Triatoma infestans*

Rudolf Barth
Instituto Oswaldo Cruz

(Com 113 figuras e 14 estampas)

1. Introdução
2. Anatomia geral do aparelho reprodutor
3. Microanatomia do testículo
4. Espermiocitogênese
    a) Espermiogônios
    b) Espermiócitos
    c) Prespermídeos
5. Resumo
6. Bibliografia
7. Abreviaturas nas figuras
8. Legendas das figuras

1. INTRODUÇÃO

Estudando a espermiogênese dos *Triatominae*, verificou-se uma ausência completa de trabalhos sôbre os pormenores da estrutura dos órgãos sexuais internos dos machos desta subfamília dos *Reduviidae*, tão importante na medicina humana. Também falta um estudo aprofundado da espermiogênese, bem como um resumo dos nossos conhecimentos atuais sôbre a evolução dos espérmios, fato êste já indicado por Schreiber e Pellegrino (1948). No trabalho dêsses autores, bem como numa outra publicação dos mesmos (1950), são tratados, entre outros assuntos, a heteropicnose nas células reprodutoras masculinas de vários *Triatominae*. Chegaram à conclusão de que os *Triatoma infestans* e *platensis* possuem três pares de cromosomas nìtidamente heteropicnóticos, bem se diferenciando êstes dos outros autosomas. Por outro

---

* Recebido para publicação a 1 de Outubro de 1955.

lado, há espécies da mesma subfamília notadas menos acentuadamente quanto a tal característica. O comportamento alocíclico de três autosomas, em *Triatoma infestans* mostra-se de grande vantagem na realização do presente estudo Além disso, de acôrdo com a literatura consultada, verifiquei que, quanto aos *Triatominae,* não existe uma descrição satisfatória nem dos órgãos sexuais masculinos internos, em si, nem da anatomia dos mesmos. Comparando os dados da bibliografia com o material em trabalho cheguei à conclusão de que é impossível uma generalização nos resultados, pois, dadas as discrepâncias observadas, de uma espécie não devem ser tiradas conclusões gerais nem para o próprio gênero e, muito menos, para a família, pois isto sempre levará a enganos. Considerando êste perigo, resultou a necessidade de estudo mais amplo das estruturas anatômica e histológica dêstes órgãos, como também, da espermiogênese. Tendo à disposição bastante material de *Triatoma infestans,* escolhi a espécie para elaborar uma base que permitisse a posterior comparação com as outras espécies da subfamília (sempre que apresentassem algum interêsse médico), bem como possibilitasse descrição complementar dos mesmos. Antes da apresentação dos resultados do presente trabalho, torna-se necessária uma uniformização da terminologia:

Segundo Depdolla (1928), será usada em seguida, na descrição da espermiogênese, a terminologia adotada por von Lenhossek (1906): em vez de espermatogônios, usaremos espermiogônios; em vez de espermatócitos da primeira ordem, sòmente espermiócitos; no lugar de espermatócitos da segunda ordem, sòmente prespermídeos; em vez de espermatídeos, apenas espermídeos e, substituindo o têrmo espermatozóides, teremos espérmios. Disto resulta, em vez de espermatogênese, espermiogênese; em troca de espermatocitogênese e espermatohistogênese, espermiocitogênese e espermiohistogênese. Na extremidade de cada folículo do testículo ,encontra-se uma célula isolada, muitas vêzes chamada "célula de Verson", e que já foi descrita, em 1886, por Spichardt, razão pela qual deveria ser denominada "célula de Spichardt", fato já mencionado por Cholodkowsky (1905). Esta célula, segundo Gruenberg (1903), será chamada aqui de "célula apical". Não se pode falar em epidídimis, pois o *vas deferens,* no ponto da passagem para a periferia do testículo, dirige-se diretamente para trás, descrevendo apenas poucas curvas. Originando-se todos os espermiogônios de cada cisto de um único espermiogônio primário (veja em baixo), os cistos serão denominados de acôrdo com o número dos espermiogônios; assim, por exemplo, um cito-2^5 deverá conter 2 espermiogônios.

Material e Métodos

Foram usados exclusivamente adultos de *Triatoma infestans,* pois a espermiogênese em *Heteroptera* continua também no estádio adulto, não terminando no período larval como, por exemplo, em *Lepidoptera.* As técnicas empregadas são as usuais da histologia e microanatomia. Os líquidos fixadores foram escolhidos com as finalidades das observações que se tinham em vista: para trabalhos microanatômicos,Bouin-Duboscq-Brasil, Carnoy com sublimado (segundo Weber: para cada 100 cm^3 de álcool absoluto usado na composição, adicionava-se 1 g de sublimado) e Gilson; para observações histológicas Flemming, Champy, Helly e Da Fano. Mostrou-se como era vantajosa uma fixação segundo Flemming, sem ácido acético (0,5 g O_sO_4 dissolvido em 118,7 cm^3 de ácido crômico a 1%, em água bidestilada, solução que se mantém bem estável, quando na geladeira e em vidro bem fechado e sem impurezas). Esta fixação é também indicada para os mitocôndrios. De acôrdo com as observações feitas, ficou provado, aparentemente, que os resultados são melhores quando se evita o emprêgo de ácido acético em pesquisas citológicas nas quais se deseja exata manutenção da disposição natural, bem como do tamanho dos constituintes do núcleo e das formações protoplasmáticas, pois, pela embebição intensa, provocada por êste ácido, ocorrem grandes modificações das mesmas. Já se precisa ter semelhante cuidado em preparados por esmagamento ou em esfregaços, pois apresentam grandes modificações mecânicas resultantes das manobras a que são submetidos. Os últimos dois métodos foram usados, neste trabalho, sòmente em poucos casos, servindo apenas para orientação geral. Também o método simples, com ácido acético-carmim, o preferido na genética, não foi empregado a fim de se evitarem artefatos. Obtivemos preparações satisfatórias nos folículos inteiros do testículo, com o fim de localizar as diferentes zonas germinativas, por fixação segundo Carnoy (sem sublimado, durante 20 minutos) e coloração subseqüente por hematoxilina de Delafield (progressiva) ou com *Kernechtrot* (nuclear fast red) ou com galamina. Os melhores resultados para a coloração de cortes deu sempre a hematoxilina férrica, segundo Heidenhain; outras colorações (hematoxilinas, *Kernechtrot* e outros corantes sintéticos) serviram apenas para o contrôle.

2. ANATOMIA GERAL DO APARELHO REPRODUTOR

Para a análise da estrutura do testículo de *Triatoma infestans,* temos que nos referir aos resultados obtidos em trabalhos embriológicos. Não existe uma observação particular sôbre a embriogênese dos *Triatominae,* como também ainda não foram tratados embriològicamente os *Reduviidae.* Pode aceitar-se que os fundamentos da evolução embrionária dos *Heteroptera,* especialmente a evolução das células germinativas primitivas e o processo da diferenciação definitiva das gônadas, se verificam em sentido idêntico ao descrito por outras ordens de insetos. Destacam-se neste particular os idênticos autores: Heymons (1897, 1899), Cholodkowsky (1888, 1889), Boveri (1892), Wheeler (1890, 1893), Graber (1891), Tannreuther (1907), Hirschler (1928) (para uma bibliografia mais ampla, especialmente quanto à mais antiga, veja em Schroeder, 1928, vol. 1, págs. 819-824). Mesmo levando-se em consideração o perigo que acarretam as falsas conclusões, tiradas pelas generalizações, verificamos pelo exame dos numerosos trabalhos sôbre a evolução das gônadas que alguns resultados sempre se repetem nos diversos grupos dos insetos, como se obedecessem a um plano de evolução uniforme e pré-traçado: Antes do fechamento das ectoderma e endoderma, em tôrno do vitelino do ôvo, o que se faz por um crescimento lateral, no sentido vertical, as células germinativas primitivas, já isoladas do material somático durante os primeiros estádios da clivagem, deslocam-se para a frente e entram em contacto com as listras gonadogêneas. A origem destas últimas é mesodermal. Elas se apresentam sob a forma de delicadas fileiras celulares no splancnopleura, indo ter, aos lados dos cardioblastos, ao mixocélio do embrião. Com o crescimento dos bordos laterais da placa embrional, circundando o vitelino, também as duas listras gonadogêneas vão ser translocadas em direção ao lado dorsal. Enquanto os cardioblastos se reúnem, formando o vaso dorsal, as listras gonadogêneas permanecem separadas pelo mesmo mas se mantêm sempre numa posição absolutamente dorsal. As células germinativas primitivas, mais cedo ou mais tarde, entram na parte ventral da listra gonadogênea, dilatando as células da mesma e formando, finalmente, um conglomerado compacto e isolado, envolvido por uma camada epitelial que se origina das células da própria listra gonadogênea. Citando Hirschler (Schroeder, vol. I, pág. 806), cujas asserções claras são aqui transcritas resumidamente, podemos dizer: "em virtude da parte da listra gonadogênea dilatada em forma de clava, temos que a considerar como uma gônada nova, composta de duas formas celulares: as células sexuais, numa posição central, e as do revestimento externo mesodermal que formam o epitélio da glândula sexual" (Tradução). O ponto de entrada das células germinativas primitivas varia nas ordens observadas. Heymons, por exemplo, encontrou em *Forficula* as citadas células, penetrando nos somitos do nono ao oitavo segmentos abdominais, formando-se, nesta região, a gônada. Em *Gryllus,* as células acumulam-se no segundo e terceiro segmentos abdominais, em *Periplaneta,* ao contrário, do segundo ao sétimo segmentos. Teremos que verificar como êstes fatos se passam embriològicamente em *Triatoma infestans*. A parte dorsal da listra gonadogênea, situada em frente da gônada que se prolonga, atravessando o tórax até o pescoço, forma o fio suspensor desta (*"Endfadenplatte"* segundo Heymons) (est. 1 fig. 1, EF). No adulto de *Triatoma,* o fio insere-se com sua extremidade no bordo dorsal da abertura proximal do protórax. A parte dorsal da listra, nos segmentos em que as gônadas se formam, transforma-se, dando origem ao *vas deferens* (respectivamente oviduto) que, como tal, continua nas partes correspondentes naquelas secções do corpo que seguem aos segmentos providos de gônadas, de modo que os canais condutores vão prolongando-se para trás. Êstes, cada qual com a sua extremidade, entram mais tarde em contacto com uma invaginação ímpar e ectodermal que — no caso do macho — forma o *ductus ejaculatorius*.

As células germinativas primárias não se acumulam para formar um conglomerado compacto mas, ao contrário, se introduzem em canais formados por invaginações laterais da parede da listra gonadogênea para o interior da mesma. Êstes tubos representam os folículos. Em formas primitivas (segundo Heymons no embrião de *Lepisma*) os folículos encontram-se distribuídos nos segmentos. Com a evolução, a distância entre êles diminui "de modo que a distribuição regular dos mesmos, em pares por cada segmento do corpo, torna-se difusa" (Heymons, tradução). Nos insetos mais adiantados, não se pode mais observar a seqüência segmentada dos folículos do testículo, nem mesmo no embrião. O número dêles, ao que tudo indica, é constante para cada espécie. Em *Triatoma infestans,* em todos os exemplares examinados, foram encontrados 7 folículos. As medidas dos folículos oscilam individualmente e de acôrdo com a idade. Existem também diferenças consideráveis entre os 7 folículos de um só testícuclo.

Antes de examinar o conteúdo do folículo, necessária se torna uma revisão geral da anatomia do aparelho reprodutor interno, pois encontramos algumas discordâncias nos resultados já publicados quanto aos *Heteroptera*. No corpo fortemente achatado, de *Triatoma infestans,* o testículo localiza-se do segundo ao quito segmentos, quase nos bordos laterais do abdômen, em baixo do diafragma, dentro do *sinus perivisceralis*. Êle é fixado na sua posição por meio de ramificações das traquéias do segundo ao quinto segmentos. Já durante a dissecção, nota-se a forte ramificação dêstes troncos traqueiais por sôbre a parede da gônada, indicando intensa atividade fisiológica dêste órgão. Os ramos traqueais espalham-se sôbre uma membrana (cápsula testicular) que envolve o conjunto dos 7 tubos testiculares bem como o *vas deferens* na porção constituída pelos 7 *vasa efferentia* curtos (est. 2, fig. 2 VE). O *vas deferens* é a prolongação do primeiro *vas efferens* (VE_1) que pertence ao folículo de situação mais proximal, passa em linha reta sôbre o lado interno do testículo que fica voltado para o intestino e recebe equidistantemente os outros vasos. Depois da reunião com o VE_7, o *vas defferens* passa através da membrana envoltória do testículo, enquanto que, por sua outra extremidade, os *vasa efferentia* se ligam aos folículos que, entrelaçando-se intensamente, formam alças e circunvoluções irregulares que preenchem todo o interior da gônada. Pode observar-se que cada folículo ocupa um espaço próprio, podendo, entretanto, esta localização variar de um exemplar para outro. O contôrno do testículo é irregular, deixando reconhecer porém uma forma aproximadamente elipsóide, cujo eixo maior está situado paralelamente ao eixo principal do corpo (fig. 1). Nesta espécie de *Triatominae* não se observa uma coloração da cápsula testicular como a que foi descrita para muitas espécies de *Heteroptera* (em geral encontrada nas formas fitófagas). Os testículos são sempre claros e opacos, com ligeiro brilho vítreo e de tonalidade esbranquiçada. O mesmo se observa nas espécies próximas: *Triatoma sordida, maculata, vitticeps, Panstrongylus megistus* e *Rhodnius prolixus* e *neglectus* e, provàvelmente, poderá ocorrer, em linhas gerais, em tôdas as espécies dêste grupo dos *Reduviidae*. O tamanho do testículo sofre grandes oscilações individuais, variando com a idade, o estado de alimentação e a fase de atividade sexual.

Na fase visceral nasce, aproximadamente no meio do testículo, o *vas deferens* (fig. 1 VD). Pouco retorcido na parte inicial, êle torna-se para trás aproximadamente na altura da extremidade do testículo, começa logo a formar alças estreitas e, ainda mais para trás, um novêlo irregular e frouxo. O seu diâmetro inicial é pequeno (est. 2, fig. 2 e est. III, figs. 3, 4, VD). Logo depois a sua luz aumenta até ao nível do novêlo citado, onde novamente diminui até atingir novamente o diâmetro inicial. Êste aumento ou dilatação é a *vesícula seminalis* em que são armazenados os feixes de espérmios que saem dos folículos do testículo (est. 1, fig. 1 e est. 3, 5, VS). Não tem contôrno regular esta expansão, possui numerosas dilatações formadas em conseqüência do acúmulo acidental do feixes de espérmios. O *vas deferens* sai das alças enoveladas e estreitas, situadas no sexto e sétimo segmentos abdominais, formando um tubo fino, e se abre no aparelho copulador constituído de partes do oitavo e nono segmentos (est. 1, fig. 1, CAP). A direção do percurso das alças está indicada por setas na figura 1 (est. 1).

Ao lado dêste sistema, formado pelas porções espermiogênea e condutora, existe ainda um segundo conjunto de órgãos compostos pelas glândulas acessórias e pelo aparelho excretor das mesmas. Segundo as observações histológicas feitas, e que serão publicadas em breve, estas glândulas e o seu aparelho excretor têm uma origem mesodermal e, por isto, serão chamados, segundo Escherich (189), de mesodênias. Encontram-se, em cada lado do corpo, 4 destas glândulas (est. 1, fig. 1, MI-IV), tôdas em forma de vesículas simples (est. 3, fig. 6), o que quer dizer que cada uma delas consta de um epitélio granular unicelular, incluindo uma cavidade grande para onde as células conduzem a sua secreção e que é eliminada por meio de um canal excretor. As glândulas situam-se de modo tal, que tôdas as suas extremidades, nas quais se encontram os canais excretores próprios, se justapõem num só ponto, circundando assim o hilo no qual os 4 canais próprios se reúnem, formando o canal excretor comum (*ductus glandularum*) (est. 3, figs. 7 e 8). Êste hilo, em geral, encontra-se na altura do limite entre o quinto e sexto segmentos, um pouco para trás da extremidade distal do testículo (est. 1, fig. 1, HI). Daqui parte uma glândula (fig. 1, M_1) que se dirige para adiante. Ela é comprida, inicialmente larga, afinando-se lenta porém uniformemente, em direção ao ápice. Situa-se do lado visceral do testículo, sempre ventralmente do *vas deferens,* respectivamente da *vesícula seminalis.* A sua extremidade, arqueada em direção ao testículo, acosta-se firmemente ao *vas deferens,* chegando, nesta posição, até ao testículo. Ela é chamada de "glândula anterior".

Uma outra glândula (fig. 1, M_1) nasce ao lado externo do hilo, dirigindo-se logo para trás. Inicialmente ela é larga, tornando-se, entretanto, após a sua metade, fina e tubiforme. Com esta forma, ela passa para o interior do corpo e penetra no enleamento do *vas deferens*. Ela vai ser denominada "glândula tubiforme".

A terceira glândula (fig. 1, M_3) origina-se daquele lado do hilo que está voltado para o interior do corpo, dirigindo-se também para trás. E' curta, chegando apenas à metade da glândula tubiforme; tem a extremidade simplesmente cônica. É a chamada "glândula interna".

A quarta glândula (fig. 1, M_4) parte do lado dorsal do hilo. Tem a mesma forma e o tamanho da glândula interna, sendo chamada de "glândula dorsal".

No lado posterior do hilo se forma o canal excretor de tôdas as quatro glândulas (na fig. 1, em prêto), o denominado *ductus glandularis communis*. Êle passa entre as três mesadênias posteriores, dirigindo-se para trás e, depois penetrando entre as circunvoluções do *vas deferens* onde forma um ou dois laços. Ao nível do fim do corpo, êle corre paralelamente ao *vas deferens* e, já no interior do aparelho copulador, se abre no *ductus ejaculatorius*.

Na primeira parte do trabalho apresentado serão analisadas a estrutura mais delicada do testículo e a espermiocitogênese, enquanto que a espermiocitogênese e a estrutura do aparelho condutor serão tratadas na segunda parte.

3. MICROANATOMIA DO TESTÍCULO

Os 7 folículos do testículo, enleados na formação de um conjunto irregular, são recobertos por duas camadas celulares. Êste envoltório, nunca pigmentado, será denominado "cápsula testicular". Destas duas camadas, ìntimamente justapostas, a interna representa um verdadeiro epitélio sincicial, com núcleos ovais de distribuição relativamente uniforme (N_1); suas células (est. 1, fig. 9, IH) provàvelmente corespondem às mesodérmicas da lista gonadogênea. Gruenberg (1903) menciona a mesma formação para o testículo da lagarta de *Pieris brassicae*. Não pode ser divisada aqui nenhuma membrana, como a que é secretada, pela camada interna para o interior da gônada, em certos lepidópteros (*Huellmembran* segundo Gruenberg em embriões de *Bombyx mori*). A camada externa da cápsula testicular (est. 1, fig. 9, AH) possui uma estrutura completamente diferente: é composta de grande número de traquéias, de variados diâmetros, cuja epiderme confluiu, formando agora uma camada única, na qual se encontram os núcleos hipodérmicos das traquéias irregularmente distribuídos (N_2). Tal camada, ao que tudo indica, é reforçada secundàriamente por linfócitos, conclusão a que se chega pela presença dos grandes núcleos ovais e isolados (N_3); esta disposição lembra outras semelhantes, como as observadas nas membranas basais da hipoderme de certos insetos, já citados na literatura e, por nós, descritas numa formação típica na hipoderme dos espinhos peçonhentos de *Automeris incisa* (Barth, 1954). Em virtude da camada externa, a cápsula testicular adquire grande resistência, protegendo assim o conteúdo das influências mecânicas externas. No ponto onde as extremidades dos folículos atingem a parede do testículo — e estas zonas germinativas sempre se encontram numa posição periférica —, as traquéias são relativamente finas (est. 1, fig. 9), podendo, porém, em outros lugares da cápsula testicular, aumentar consideràvelmente o seu diâmetro. A camada externa (isto é, a traqueial) da parede do testículo possui uma espessura alternante: no germinário e nas suas cercanias ela é delgada (na est. 1, fig. 9 ela aparece mais espêssa por causa da inclinação do corte); mas, nesta altura, a camada interna é mais forte. Nas outras regiões do testículo, onde os folículos com os cistos mais velhos se encontram numa posição periférica, verifica-se o contrário: a camada traqueal (pseudoepitélio) aumenta em virtude das traquéias mais numerosas e maiores, enquanto que a camada epitelial torna-se ràpidamente mais delgada, para, afinal, perto do *vas efferens,* chegar à espessura de uma membrana com apenas vestígios de núcleos degenerados.

Entre as partes mais velhas dos folículos, a cápsula testicular desce mais para o interior da gônada, juntamente com ramos traqueais maiores que, passando pela camada interna, penetram nos espaços entre os folículos e, ramificando-se, atingem tôdas as partes do interior do testículo (est. 1, figs. 9 e est. 4, fig. 10). Deve-se chamar a atenção que elas nunca penetram pròpriamente nos folículos, justapondo-se apenas ligeiramente às paredes dos mesmos.

O fio terminal, que nasce do polo oral da gônada e sobe até a região cervical, representa a continuação da parede do testículo (fig. 1). Consta de uma série sólida de células mesodérmicas — que se continuam na camada interna epitelial da cápsula testicular — de um manto cilíndrico, do pseudoepitélio traqueal, diminuindo ràpidamente em direção à cabeça.

No ponto de saída do *vas deferens* do corpo testicular, encontramos apenas a camada epitelial, ajustando-se diretamente ao epitélio interno do *vas deferens.* Enquanto que, no início dos *vasa efferentia,* ela se torna muito delgada, agora torna-se espêssa. A camada traqueal, que antes do ponto de saída do *vas deferens* se apresentava espêssa, desaparece completamente ao longo do *vas deferens*. Imediatamente depois da saída do testículo encontram-se, no epitélio externo do *vas deferens,* as primeiras fibras da musculatura circular. Esta, logo depois, aumenta, formando um envoltório muscular.

O espaço entre os folículos está cheio de um líquido transparente que, frente aos fixadores, comporta-se como a hemolinfa; sòmente após fixação com ácido ósmico com sublimado aparecem alguns glóbulos negros, maiores ou menores (est. 5, fig. 11), que devem ser considerados como de substâncias gordurosas. As mesmas esferas encontram-se também nas células da parede dos folículos e na cápsula testicular, representando substâncias nutritivas. O número e o tamanho das mesmas variam de acôrdo com os estados funcional e alimentar do animal. No líquido testicular, encontram-se alguns amebócitos com núcleos grandes e protoplasma vesicular. Depois de fixação segundo HELLY ou, com líquidos contendo ácido ósmico, observa-se, no interior dos mesmos, numerosos mitocôndrios uniformes com estrutura oval (est. 5, figs. 12, 13 e 14). Após o tratamento segundo DA FANO, uma fixação adequada para a substância de Golgi, com nitratos de cobalto e de prata, aparece nos amebócitos grande número de fios, intensamente negros, que percorrem, em tôdas as direções, muitas vêzes reunidos em feixes, o protoplasma (est. 5, fig. 15). Êstes fios, que são encontrados regularmente, às vêzes, dão o aspecto de uma rêde; mas não quero decidir se de fato êles representam a substância de Golgi ou se apenas se trata de artefatos de fixação. Os dois fatos, as presenças de mitocôndrios e de esferas gordurosas indicam que entre o conteúdo dos folículos e a hemolinfa existe intensa troca de substâncias, conclusão a que se pode chegar também pela presença das numerosas traquéias entre os folículos.

Em geral, na bibliografia, a parte apical do folículo é considerada como sendo a sua porção inicial. Como já foi mencionado, isto não se verifica no caso da cápsula testicular ser homóloga a certas partes da primitiva listra gonadogênea do embrião e, das células germinativas (células sexuais primitivas), translocarem-se para o interior da listra gonadogênea (veja, por exemplo, os trabalhos embriológicos de Hymons e outros). Considerando isto, podemos verificar, no adulto, que a formação do folículo se iniciou no próprio ponto da sua passagem para o *vas efferens*. O desembocamento no *vas efferens* representa a parte inicial do folículo, enquanto que a extremidade apical deve ser considerada como a sua verdadeira parte terminal. Esta suposição facilita, outrossim, a compreensão da origem da parede folicular que se apresenta sob a forma de epitélio fino, com uma só camada (est. 1, fig. 9, FE). Durante a sua infiltração, as células sexuais primitivas translocaram partes da listra gonadogênea para o interior da mesma, nela penetrando em forma de invaginação ou dilatando as células da listra de modo que a parede definitiva do folículo corresponde ao epitélio da cápsula testicular. Do ponto de vista da histologia, pode observar-se que os dois epitélios, quanto ao protoplasma e aos núcleos, são muito parecidos, mas que o epitélio da cápsula testicular é mais espêsso e os seus núcleos são consideràvelmente maiores do que os da parede folicular. Esta suposição, aparentemente convincente, precisa ser confirmada por meio de estudos embriológicos.

Na extremidade apical do folículo, o epitélio, de camada fina (est. 1, fig. 9, FE), encosta-se fortemente ao epitélio da cápsula testicular que, por sua vez, reveste a dilatação terminal do folículo, penetrando então numa porção do interior do testículo, enquanto que a parte traqueal da cápsula também se espêssa neste ponto, lançando-se, do mesmo modo, para o interior da gônada. Muitas traquéias atravessam a camada interna da cápsula testicular nesta formação (esquema na est. 5, fig. 16). As traquéias emitem ramos, de um lado, para a parede do folículo e, de outro, para o interior do testículo, atravessando o mesmo completamente, de modo que tôdas as partes internas dêste sejam mais ou menos uniformemente providas de oxigênio. Na dilatação terminal, a parede do folículo (epitélio folicular) apresenta-se uniformemente fina, possuindo núcleos pequenos e ovais localizados eqüidistantemente. Enquanto que a camada epitelial interna da cápsula testicular forma um sincício, as células do epitélio do folículo, na extremidade do tubo, apresentam-se separadas, uma da outra, por paredes celulares diagonalmente dispostas. Foi possível observar que depois de uma superfixação intensa, o epitélio se rompeu, separando-se em células que possuem limites celulares diagonais (est. 1, fig. 9, est. 5, fig. 16), paredes estas que, por seu lado, reforçam naturalmente a junção entre as células epiteliais. Estas células, de secção fusiforme e arredondados, quando vistas de cima, encontram-se apenas na dilatação terminal do folículo; em direção à base, isto é, à parte inicial do folículo, o epitélio torna-se sincicial. Ao mesmo tempo, o aspecto geral dêste se modifica: a espessura do sincício oscila de maneira irregular, especialmente perto dos núcleos onde é sempre mais acentuada; também êstes se alongam, tornando-se irregulares (est. 6, fig. 17). As paredes externa e interna do sincício se reforçam, formando uma membrana de modo que, principalmente a interna, poderá ser chamada "membrana própria" (fig. 17).

Junto à parede terminal do tubo folicular, no seu lado interno, encontra-se um grande número de células, mais ou menos ovais, de formas regulares, incluídas em massa protoplasmática homogênea sem fibrilas. Tôdas estão orientadas, com o eixo longitudinal, perpendicularmente à parede do folículo (est. 1, fig. 9 e est. 5, fig. 16). Apresentando-se esta, agora, como uma semiesfera, os núcleos estão dispostos de modo mais ou menos radial. O ponto de encontro de seus raios se faz numa única célula grande, cujo protoplasma possui uma densidade consideràvelmente maior e granulações mais numerosas do que o da região vizinha. O número desta é grande e arredondado, formando, em geral, esfera regular, com grande nucléolo, muitas vêzes fragmentado em várias partículas. A cromatina forma fino retículo, distribuído igualmente sôbre todo o volume nuclear .Com isto, êle dá a impressão de núcleo somático em plena atividade. A área protoplasmática, que circunda o núcleo, emite prolongamentos fibrilares que se estendem tanto em direção à área dos núcleos situados perpendicularmente, citados acima, quanto ao interior do folículo; a uma distância pequena do centro da célula êstes prolongamentos, todavia, tornam-se mais e mais difusos, entrando, sem zona limiar, na massa protoplasmática; entre êles observam-se limites celulares bem nítidos (est. 1, fig. 9). Assim, se caracteriza a "célula apical".

Êste tipo celular foi descrito em *Lepidoptera* por Spichardt em 1886, para a mariposa do bicho da sêda (*Bombyx mori*), considerando-a como *Keimstelle* (ponto germinativo). Na bibliografia mais antiga, encontram-se várias opiniões sôbre esta célula (Toyama, Gruenberg, Cholodkowsky, Tichomirow). Gruenberg, denominando-a célula apical, descreve-a como "uma célula nutritiva com funções assimiladora e glandular", célula que se atrofia num testículo, quando em degeneração (por exemplo em adultos de *Lepidoptera*), causando, ao mesmo tempo, a morte das células germinativas ainda não definitivamente desenvolvidas. Cholodkowsky considerada a mesma como "uma célula nutritiva e fagocitadora", enquanto que Toyama (1894) admite, entre outras, uma funão de sustentação; idêntica função foi descrita mais tarde (1902) por Demokidoff para uma formação especial chamada "lente", encontrada no testículo de *Tenebrio molitor*. Uma parte dos autores (como Verson e Cholodkowsky) considera a célula apical como sendo modificação de uma das células germinativas, enquanto que outros (como Toyama e Tichomirow) acreditam que ela seja uma célula somática verdadeira. Para decidir a questão, necessitamos ainda de uma observação embriológica, mas que, até hoje, ainda não foi feita com tal finalidade. Outrossim, a histologia poderá esclarecer alguns pontos sôbre a função e o valor histológico da referida célula.

Como já foi mencionado acima, justaposto ao fundo de saco do tubo germinativo, encontra-se um conjunto de núcleos uniformes e ovais, em posição radial, no interior de uma massa protoplasmática sincicial e homogênea (est. 1, fig. 9). Êste sincício, que também envolve a célula apical, vai introduzindo-se juntamente com esta e com os primeiros grupos de espermiogônios, que se originam até o estádio-2^4, no interior do tubo, como já foi descrito acima. Do protoplasma desta formação separa-se, nìtidamente, o dos espermiogônios a partir das rosetas-2^3 (est. 1, fig. 9, 2^3-R). A parte restante da massa é bem fibrilosa. Os fios protoplasmáticos orientam-se uniformemente no sentido radial, partindo da parede final do folículo em direção à célula apical. Seguindo a orientação dêstes filamentos, do conjunto de núcleos ovais, saem alguns ou mesmo grupos de núcleos que se deslocam, inicialmente, em direção à célula apical; depois, numa distância variável, êles passam ao longo da célula apical, lançando-se mais para o interior do tubo. Êste modo de translocação não está bem visível em tôdas as partes da fig. 9, mas se pode confirmar o fato nos córtes vizinhos. Logo no início dêste deslocamento, tem lugar uma diferenciação em dois grupos de células: parte dos núcleos começa a crescer e arredondar-se; é o grupo que representa os espermiogônios primários; a parte restante dos núcleos apicais mantém a sua forma e entra no espaço entre os cistos. O crescimento nuclear dos espermiogônios primários realiza-se por osmose, pois a massa cromática permanece, quantitativamente, a mesma; o núcleo agora se apresenta transparente. A cromatina passa por todos os estádios da prófase (veja abaixo) e diferencia-se, finalmente, nos cromosomas; em seguida, realiza-se uma divisão equacional normal do espermiogônio. As duas novas células dividem-se mais uma vez, sem formação de um núcleo de repouso. O resultado são quatro células (est. 1, fig 9, 2^2-R) de aspecto piriforme, que aproximam suas extremidades mais agudas, formando assim uma roseta, neste caso, uma roseta-2^2 de espermiogônios. Mais uma divisão das quatro células dará, a seguir, a roseta-2^3 (est. 1 ,fig. 9, 2^3R) com 8 espermiogônios.

Neste estádio, observa-se uma porção nítida de protoplasma, mais condensado, circundando cada núcleo, fato que também já ocorre, porém menos acentuado, na roseta-2^2. Em cada caso, (2^2 e 2^3), pode-se observar os limites celulares dos espermiogônios (est. 5, fig. 14). Na parte central das rosetas das duas fases aparecem, sùbitamente, massas irregulares de mitocôndrios (est. 5, fig. 19 a ,MC), situadas nas extremidades das células piriformes. Tais formações protoplasmáticas já são observadas quando existem ainda dois espermiogônios, como também nos espermiogônios primários no momento, em que êles saem do conjunto dos núcleos apicais; mas nestas fases, os mitocôndrios não se reúnem, pois estão distribuídos sob forma de pequenos corpúsculos no protoplasma, ao redor do núcleo.

Depois que a roseta-2^3 tiver deslocado-se ainda mais para o interior do tubo, o protoplasma começa a concentrar parte dos seus filamentos na superfície da mesma, que toma a forma de uma esfera (est. 4, fig. 19 b) que continua envolvida pelos restantes. Quanto mais a roseta é impelida para baixo (a translocação das rosetas é um processo passivo pela formação de outras), tanto mais a concentração protoplasmática progride, verificando-se que, depois de mais uma divisão de tôdas as células, o cito-2^4 está revestido por uma camada de aspecto idêntico ao do tecido conjuntivo, e justaposto ao cisto vizinho (est. 6, fig. 20). Ao mesmo tempo, pode-se verificar que os núcleos das paredes dos cistos estão entre êles (est. 6, figs. 21 , 22e 23). Êstes últimos, quando participantes das rosetas-2^2 e 2^3, eram uniformes; por ocasião dos cistos-2^4 e 2^5, entretanto êles crescem (est. 6, figs. 17, 20, 24, est. 7, fig. 25, est. 4, fig. 26), adaptam a sua forma ao espaço protoplasmático entre os cistos (fig. 20) e, mais tarde, começam a formar profundas reentrâncias (est. 7, fig. 27). Ainda não se pode observar uma parede própria dos cistos, pois, nesta altura, não existem limites visíveis entre as camadas protoplasmáticas de cistos vizinhos; nesta zona dos primeiros cistos espermiogônicos, pode falar-se sòmente em um sincício que se estende até à extremidade do tubo, incluindo os cistos e os espermiogônios primários, bem como os núcleos não diferenciados do conjunto apical (est. 5, fig. 16). Na massa protoplasmática, entre os cistos mais adiantados, isto é, entre os 2^6, 2^7 e 2^8, já encontramos aspectos diversos, pois surge uma separação entre as paredes dos cistos de maneira que, entre os mesmos, aparece agora um limite duplicado que, muitas vêzes, se separa, deixando espaços livres que se enchem de líquido linfático sem amebócitos. Agora os cistos representam, definitivamente, corpos independentes que são encontrados até na parte basal do folículo. Logo, só se pode falar em cistos verdadeiros a partir dêste momento, pois que na parte apical existem apenas "fendas", com demarcação interna nítida, espalhadas no sincício.

A parede dos cistos-2^6 a 2^8 compõe-se de camada mais ou menos fina de protoplasma com poucos núcleos grandes, que correspondem ao segundo grupo dos núcleos que se deslocou do conjunto apical em direção ao interior do folículo. Na fase de crescimento do cisto-2^8 (veja abaixo), ocasião esta em que o diâmetro da placa equatorial dos espermiogônios chega a triplicar-se (est. 7, fig. 28 e gráfico da fig. 29), a parede dilata-se fortemente, tornando-se muito fina, de modo que os grandes núcleos se localizam, formando saliências enquanto que, normalmente, êles se encontram nos ângulos entre os cistos. Durante o crescimento citado, os núcleos das paredes dos cistos aumentam o seu conteúdo constantemente, formando lóbulos ainda mais acentuados (est. 7, figs. 25 e 27). Os núcleos reproduzidos na figura 27 foram encontrados na parede dos cistos-2^7 e 2^8 antes de ter início o período de crescimento. Em fases mais adiantadas, a formação de lóbulos é ainda mais perfeita como se vê pela figura 24, onde está apresentado um núcleo da parede de novo cisto de espermídeos. Os núcleos alcançaram o seu máximo nas paredes daquelas células onde se está realizando o final da prófase da primeira divisão de maturação (diacínese) (est. 7, fig. 25) Em seguida, o volume do núcleo diminui ràpidamente, enquanto que a formação dos lóbulos ainda mais se acentua. Mais tarde, nas paredes dos cistos, durante a espermiocitogênese, a diminuição dos núcleos progrediu tanto que os mesmos ainda estão representados por apenas formação com menos de 2 μ ou 3 μ de altura.

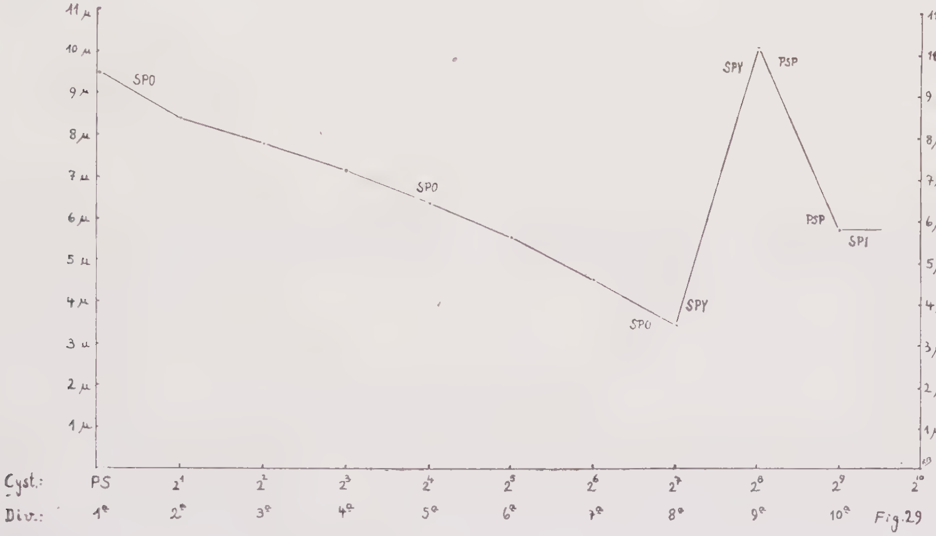


Fig. 29 — *Gráfico dos diâmetros das placas equatoriais durante as 10 divisões, a partir do espermiogônio primário até o espérmio* (tabela 1).

O crescimento intenso do núcleo dos espermiogônios pode ser verificado no quadro seguinte, bem como no gráfico da figura 29:

NÚMERO DE CÉLULAS EM CADA CISTO	FASE	MODIFICAÇÕES	DIÂMETRO
célula única	espermiogônio primário	1.ª divisão de multiplicação	9,5
cisto-2^1	espermiogônio secundário	2.ª divisão de multiplicação	8,4
cisto-2^2	idem	3.ª divisão de multiplicação	7,8
cisto-2^3	idem	4.ª divisão de multiplicação	7,2
cisto-2^4	idem	5.ª divisão de multiplicação	6,4
cisto-2^5	idem	6.ª divisão de multiplicação	5,6
cisto-2^6	idem	7.ª divisão de multiplicação	4,6
cisto-2^7	idem	8.ª divisão de multiplicação	3,5
cisto-2^8	espermiócito	crescimento e primeira divisão de maturação	10,2
cisto-2^9	prespermídeo	2.ª divisão de maturação	5,8
cisto-2^{10}	espérmides,espérmio	espermihoistogênese	—

Resumindo-se, pode-se, quanto ao desenvolvimento dos cistos, constatar o seguinte: os núcleos do conjunto apical, inclusive a sua massa protoplasmática, representam as células germinativas não diferenciadas, das quais apenas certo grupo se transforma em espermiogônios verdadeiros; êstes se multiplicam por meio de 8 divisões equacionais, formando, cada um, precisamente 256 espermiócitos que, depois da fase do crescimento, sofrem duas divisões de maturação, formando, assim, 1 026 espermídeos em cada cisto (veja abaixo). Um outro grupo, ou seja, a parte restante dos núcleos do conjunto apical, se transforma nas células das paredes dos cistos que se podem considerar sòmente como núcleos de tecido conjuntivo secundário — a nosso ver não há necessidade de criação de novo têrmo para designá-los, e manteremos a denominação "núcleos das paredes dos cistos". Translocam-se do sincício do protoplasma apical, colocando-se entre os espermiogônios e as rosetas dos mesmos. O protoplasma forma um revestimento sôbre as rosetas, constituído por camadas filamentosas, incluindo também os núcleos. Êstes, em seguida, não permanecem em repouso mas transformam-se, durante as divisões das fases da multiplicação e do crescimento dos espermiogônios, em núcleos ativos cuja função deve ser apenas nutritiva, pois o protoplasma das paredes dos cistos não dá nenhum sinal de atividade glandular, observação esta comprovada pela degeneração rápida que tem lugar durante a espermiohistogênese subseqüente, em que os espermídeos transformam-se em espérmios, fenômeno que se passa sem consumo de matéria nutritiva.

A célula apical do germinário distingue-se nìtidamente dos dois tipos celulares citados: possui quase sempre um núcleo esférico com nucléolos grandes e cromatina finamente granulada e uniformemente distribuída. A quantidade de líquido nuclear é relativamente grande: o núcleo é mais transparente do que o das células germinativas não diferenciadas, entretanto mais opaco do que o dos espermiogônios. Nota-se uma membrana nuclear, surpreendentemente forte e (est. 1, fig. 9, APZ e est. 4, fig. 10) que ainda mais se acentua em virtude da porção da cromatina que a ela se justapõe. Depois de uma fixação simples (Carnoy, Bouin ou Gilson), o protoplasma do corpo da célula apical pròpriamente dito, apresenta-se fortemente vacuolizado, quase espumoso; depois de fixação com combinações de O_sO_4 pode observar-se forte acúmulo de finas granulações escuras, circundando o núcleo, formando verdadeira esfera em tôrno do mesmo. O aspecto que assim se verifica é semelhante ao das acumulações de mitocôndrios que se colocam próximo dos núcleos durante a prófase das divisões de maturação (vide adiante). Pode acreditar-se, que também neste caso, se trate de mitocôndrios que devem ter sido dissolvidos, quando se empregaram outros fixadores sem O_sO_4. Na parte inicial dos prolongamentos protoplasmáticos radiais, que entram no sincício do germinário e que se realça nìtidamente da célula apical, os mitocôndrios estão completamente ausentes (est. 1, fig. 9); o protoplasma então forma filamentos ou fibrilas que continuam pelo sincício.

De acôrdo com a descrição histológica, podemos negar funções glandulares e nutritivas à célula apical, pelo menos quanto a um fornecimento de secreções ou substâncias nutritivas, ao sincício das células germinativas, função que já é impossibilitada pela sua localização topográfica, pois ela está bastante afastada da parede folicular e, com isto, da testicolinfa. Por outro lado, não se faz necessário, neste ponto, um transporte intenso de substâncias alimentícias porque aí não se verifica crescimento algum e a quantidade de protoplasma existente, ao que tudo indica, deverá ser suficiente como fornecedor de energia para os processos de divisão e de deslocamento que ainda terão lugar. As baixas perdas de material devem ser compensadas pela regeneração do próprio protoplasma do conjunto apical. Esta se verifica mesmo sem a existência de uma célula nutritiva especial e distante, pois o conjunto apical encosta-se diretamente à parede do folículo e pode ser nutrido através da mesma.

A nosso ver, devemos procurar uma solução para o problema da função da célula apical em sua atividade reguladora: vimos que as células germinativas, ainda não diferenciadas do conjunto apical, começam a deslocar-se, isoladas ou em grupos, em direção à célula apical (est. 1, fig. 9 NN). Imediatamente depois de saírem do conjunto pròpriamente dito, elas se diferenciam em espermiogônios (primários) ou nos futuros núcleos das paredes dos cistos. Êstes não penetram nos prolongamentos da célula apical (e que representam uma comunicação direta da mesma com o sincício geral), porém passam ao longo dela assim como lateralmente, (o que é bem visível na parte esquerda da figura 9, menos nìtidamente na parte direita em virtude de superposição) em direção paralela aos filamentos protoplasmáticos que partem da mesma, indo penetrar no interior do folículo. É possível que êste percurso pré-determinado, que faz com que todos os núcleos passem mais ou menos ao pé da célula apical, dependa de uma corrente protoplasmática condicionada pela mesma célula apical, mas, o aspecto histológico do fenômeno não permite confirmá-lo em nenhum dos casos observados. Por outro lado, também não se torna indispensável admitir esta hipótese, de uma corrente protoplasmática, pois a regulagem da saída dos núcleos, ainda completamente homogêneos, e não diferenciados, do conjunto apical, a diferenciação em si, o sentido do deslocamento e a separação controlada dos mesmos em dois grupos, fatos que se verificam durante a formação dos cistos, podem depender também de modificações na tensão do protoplasma que, por sua vez, podem ser de natureza química, produzidas talvez por fermentos ou hormônios. Uma comprovação desta hipótese, pelo emprêgo de hormônios, ficará reservada para outra ocasião. Além disto, ainda de acôrdo com o aspecto histológico, pode-se aceitar também a possibilidade de uma função de sustentação por parte daquela célula sôbre todo o interior do germinário, sustentação que, talvez, seja regulada pelo turgor da própria célula.

As células germinativas sofrem sua transformação, até chegar a espérmio maduro, no interior dos cistos e, pela formação continuada de novas rosetas dentro do germinário, vão sendo empurradas, passivamente, mais e mais, para a extremidade basal do folículo. Neste ponto do tubo, os cistos se despreendem e passam a flutuar livremente na testicolinfa (est. 7, fig. 30, lado direito). Na zona transitória, entre folículo e *vas efferens,* tem lugar uma transformação abrupta das paredes dos cistos :os cistos acumulam-se, ajustam-se novamente uns aos outros e as suas paredes deixam observar uma degeneração progressiva do protoplasma e do núcleo, dando, finalmente, no limite da abertura do folículo, um aspecto de rápida necrose (est. 7, fig. 30). A parede do folículo não toma parte nesta necrose ou histólise (est. 7, fig. 31) e se continua, sem interrupção (na fig. 31 justamente êste ponto foi inutilizado pelo corte, passando a formar a parede do *vas efferens.* Na figura 31 pode-se ver, ao lado direito, os cistos dos espérmios dirigindo-se para o *vas efferens.* As paredes dos mesmos encontram-se em plena desorganização e nelas o protoplasma se decompõe, formando placas e esferas que são liquefeitas posteriormente; também os núcleos vão ser destruídos. A degeneração dêstes é iniciada por uma aglomeração da cromatina que depois se divide em porções irregulares, maiores ou menores (est. 8, fig. 32). Mais tarde, a membrana nuclear se dissolve e as partículas cromáticas, que ainda continuam diminuindo, encontram-se disseminadas no protoplasma em degeneração e podem ser observadas, até o fim dêste processo, nos restos protoplasmáticos (fig. 30, CRR). Desta maneira, os feixes dos espérmios são libertados, e, a seguir, entram no *vas efferens* (figs. 30 e 31, SBB).

Enquanto que as partes das paredes dos cistos, encontrados na região central do folículo, são rápida e completamente destruídas, êste processo torna-se mais lento nas partes mais periféricas de modo que, na parede folicular, se forma um acúmulo de camadas de um tecido necrósado e de aspecto caótico que, na abertura do folículo, se acola ao epitélio do *vas efferens* (fig. 31). Êste é formado por células altas, estreitas, em forma de cilindro (fig. 31, EVE), sempre binucleada. Reveste-se externamente por uma camada de células que são a continuação da parede folicular. Os dois núcleos, pequenos, arredondados ou ligeiramente ovais, estão situados um acima do outro, pois a largura celular corresponde exatamente ao diâmetro dos mesmos; estando êles dispostos, sempre, pràticamente, na mesma altura, apresentam-se como duas camadas nucleares contínuas do epitélio. O protoplasma é muito homogêneo e não deixa observar uma estrutura reticular; mas contém numerosas granulações pequenas (fig. 31). Regularmente encontram-se alguns vacúolos maiores, ovais, tanto perto da superfície, como acima ou abaixo dos núcleos. A superfície apical da célula forma um rabdório de altura considerável, que, em virtude do seu tamanho e nitidez, lembra um revestimento de cílios. A demarcação do rabdório, tanto na parte apical quanto na basal, é muito nítida. Os aspectos do núcleo e do protoplasma não deixam entrever qualquer função glandular para o epitélio do *vas efferens.* Ao contrário, tudo leva a supor uma atividade de absorção, haja visto, por um lado, o comprimento extraordinàriamente grande que atinge o rabdório, lembrando o da mesma organela no epitélio intestinal de certos insetos aquáticos, (como por exemplo, nas larvas de *Blepharoceridae*), e por outro, a presença de grandes vacúolos que, na parte basal da célula, têm o mesmo tamanho que na parte apical, indicando pois uma passagem de substâncias através da célula. Sendo assim, constatamos fenômeno oposto ao de uma secreção, função esta, durante a qual os vacúolos vão aumentando em direção ao pólo apical, sendo os mesmos, no pólo basal, algumas vêzes, menores ou até ausentes. Semelhante fato também se comprova pela presença de grandes quantidades de substâncias nutritivas, de alta concentração, que, constantemente, entram nesta zona (provenientes da histólise das paredes dos cistos), de modo que haverá um acúmulo dêste material nos *vasa efferentia* e no *vas deferens*, onde, porém, não desempenham qualquer função porque, aí, não mais se verifica uma nutrição intensiva dos espérmios. Além disto, devemos mencionar que os aspectos histológicos da linfa, nos *vasa efferentia* e no *vas deferens*, muito se diferenciam entre si: a quantidade de substância albuminóide fixável no interior do *vas efferens* é, muitas vêzes maior do que a do *vas deferens*. Levando-se em conta estas quatro razões apontadas, é muito provável que o epitélio dos *vasa efferentia* seja o responsável pela reabsorção da maior parte da substância nutritiva proveniente da necrose, e que em conseqüência, novamente vai entrar em circulação na hemolinfa.

Como já foi mencionado na parte que trata da anatomia geral, os *vasa efferentia* são apenas muito curtos em vista do que desembocam, logo em seguida, no *vas deferens* (figs. 2 e 3).

4. ESPERMIOCITOGÊNESE

a) *Espermiogônios*

Quanto ao aspecto cariológico os núcleos, do conjunto apical, ligeiramente ovais, são idênticos. Possuem todos o mesmo conjunto cromático heteropicnótico, de situação central, e do qual partem (est. 8, fig. 33), em tôdas as direções, fios ramificados que se coram apenas ligeiramente. Logo após a saída do conjunto apical, os futuros núcleos das paredes dos cistos começam a alongar-se no sentido do eixo longitudinal, correspondente à direção do movimento do deslocamento. A distribuição da cromatina mantém a mesma disposição, já descrita acima, porém a massa cromática central se estira em correspondência com a forma alongada do núcleo, no mesmo sentido do eixo longitudinal dêste e, as variações que se observaram na intensidade de condensação da cromatina desaparecem, o que se conclui pelo fato do retículo da cromatina tingir-se com a mesma intensidade que a do corpo central (est. 8, figura 34). As demais transformações sofridas por êstes núcleos já foram mencionadas por ocasião da descrição da parede dos cistos (veja acima). Êles mantêm a sua função de núcleos nutritivos dos cistos até na base do folículo, no ponto em que o mesmo se abre no *vas efferens*; êles desaparecem com a necrose geral das pardes dos cistos (fig. 31).

Bem diferente é o desenvolvimento dos núcleos germinativos: depois de sair do conjunto apical, as células se arredondam e se colocam entre os percursos descritos pelos núcleos das paredes dos cistos, onde permanecem. Esta região está situada mais ou menos afastada da célula apical e pode ser observada mais ou menos profundamente dentro do folículo. Na figura 9, os espermiogônios primários se apresentam perto da parede do folículo ou também, dentro do mesmo, às vêzes, ainda mais no seu interior do que algumas das rosetas-2^3. As duas formas das células, tanto as germinativas como as das paredes do cistos, possuem no seu próprio protoplasma, especialmente na parte anterior dêste, quanto à direção do deslocamento, numerosas granulações pequenas, também de forma oval, com a mesma afinidade para a hematoxilina como a observada nos mitocôndrios das futuras rosetas. Enquanto que êstes mitocôndrios logo desaparecem completamente ao redor dos núcleos das paredes dos cistos, êles continuam presentes nas células germinativas — denominadas, depois da sua diferenciação, espermiogônios primários — e justapõem-se à superfície do núcleo e, penetram, também, em quase todo o protoplasma do espermiogônio. Uma disposição semelhante é encontrada mais tarde também nos espermiócitos. Além disto, os núcleos dos espermiogônios primários realçam-se, já logo no início, dos núcleos das paredes dos cistos pelo seu crescimento que tem lugar, simultâneamente, com o seu arredondamento. Êsse crescimento se realiza pela entrada de líquidos, de modo que o núcleo mostra-se mais transparente, aumentando o seu diâmetro até 10 μ. Numa posição mais ou menos central, encontra-se um aglomerado cromático muito mais condensado do que a parte correspondente dos núcleos não diferenciados do conjunto apical (est. 8, fig. 35). Pode-se aceitar que esta massa seja homóloga ao corpo heteropicnótico dos espermiócitos que contêm os cromosomas sexuais e os três macrocromosomas bivalentes A, B e C. Por êste motivo, é êle denominado "corpo de 5 valores", pois os componentes citados comportam-se, durante tôda a prófase das divisões de maturação, de maneira heteropicnótica. No caso presente dos espermiogônios, essa massa deverá ser chamada "corpo de 8 valores" (isto porém em têrmos, pois a sua composição ainda não pôde ser comprovada rigorosamente. Veja abaixo). Ela é constituída pelos três pares de macrocromosomas A, B e C e os dois cromosomas sexuais X e Y. Em tôdas as direções da mesma, se emitem fios reticulares, carregados com grânulos cromáticos maiores e menores (fig. 35).

O espermiogônio primário, já durante a fase do aumento de volume, inicia a preparação da primeira divisão espermiogonal para entrar na fase-2^1. Observam-se em todos os cistos, no total, sempre, 8 destas divisões equacionais que se seguem ràpidamente, de modo que, ao chegar à fase-2^8, o espermiogônio primário se multiplicou, alcançando o número de 256. Durante estas divisões de multiplicação, êles têm o seu volume reduzido à metade, o mesmo acontecendo à massa protoplasmática de cada célula e também aos núcleos. Porém, pela nutrição, concomitantemente fornecida pelas células das paredes dos cistos, o volume, depois de cada divisão, se refaz até um certo ponto. Não se podem medir as células com um rigor tal que permita aquilatar o grau das diminuições. É mais indicado medir os diâmetros das placas equatoriais de cada divisão para que se possa ter uma idéia da amplitude das transformações. A tabela 1 e o gráfico da figura 29 dão esclarescimentos relacionados com êstes fenômenos. Foram medidas as placas equatoriais de um só folículo e, de cada vez, em metáfase típica. A diminuição prossegue, durante as 8 divisões, de maneira lenta e uniforme. Ao contrário, ela acentua-se muito depois do último crescimento da fase-2. A 10.ª divisão segue imediatamente à 9.ª sem que os núcleos entrem num "estado de repouso". Porém, depois de cada divisão espermiogonal, verifica-se sempre nova fase de repouso de modo que o intervalo entre estas é bastante prolongado com o fim de facilitar uma compensação parcial da substância perdida por cada célula-filha.

As modificações que o conteúdo do núcleo dos espermiogônios vai sofrer, antes das divisões equacionais, correspondem, em geral, às mesmas das células somáticas: o corpo de 8 valores permanece com a sua forma inicialmente inalterada. As granulações de cromatina, de tamanho variável e de distribuição irregular, começam a arrumar-se de maneira regular sôbre os fios do retículo da linina, aparecendo tôdas, agora, mais ou menos do mesmo tamanho.

Nesta fase pode-se observar que o retículo se compõe de numerosos fios isolados, que se entrelaçam ìntimamente. Na est. 8, figs. 36 e 37, estas alças foram separadas em diversos planos, para uma focalização exata dos mesmos, ao microscópio, não tendo sido desenhadas as secções das extremidades. Não foi possível determinar exatamente o número dos fios mas, aparentemente, tudo indica que o mesmo corresponda ao número da série diplóide dos cromosomas, devendo levar em consideração que a quantidade foi diminuída em conseqüência da soldadura dos 8 cromosomas do corpo de 8 valores (duas vêzes A, B, e C e ainda X e Y); deverão existir pois 14 fios. Logo em seguida, êstes começam a encurtar-se, o que se exprime pela distância menor entre as granulações. Com isto, tem lugar, lògicamente, um reforçamento das alças que agora se tornam visíveis. O corpo de 8 valores começa, nesta altura, a desintegrar-se (figuras 38 e 39). Na figura 38, num corte mediano do núcleo, encontra-se no centro do mesmo um emaranhado confuso de fios que, muitas vêzes, emitem laços, partindo do centro e novamente a êle retornando (fig. 38, SCH); na figura 39, algumas destas alças são apresentadas, vista de cima (focalização superior do corte do núcleo). Os fios e laços, aumentados na figura 40, coram-se fortemente pela hematoxilina, e sôbre os mesmos se distribuem granulações cromáticas maiores ou menores de mesma forma. O encurtamento e a condensação dos fios prossegem de modo que depois da decomposição do corpo de 8 valores é possível se isolarem os fios òticamente. Ao mesmo tempo, observa-se duplicação longitudinal dos fios, permanecendo os grânulos ainda em contato direto entre si, o que pode ser comprovado pelo exame dos cortes nos quais as alças foram atingidas transversalmente (fig. 41, QFA). Na figura 41, tal estádio de fios duplicados foi desenhado, focalizando-se os planos mais elevados do corte. Nas figuras 42 e 43 é apresentado, esquemàticamente, o mesmo fato, obtido pela superposição de diversos planos focados de modo a ficarem bem visíveis os fortes grânulos de cromatina situados nas extremidades do fio, bem como as finas ligações de linina pouco coráveis, existentes entre as extremidades dos dois fios-irmãos (fig. 42, LB). A condensação e o encurtamento continuam ainda, de modo que, finalmente, os grânulos entram em contacto entre si, em sentido longitudinal, tornando-se os fios de linina invisíveis, formando-se então segmentos cromáticos compactos que se justapõem, sem exceção, à membrana nuclear (figs. 44, 45 e 46), deixando com isto o centro do núcleo completamente vazio. Nesta altura, já é possível certificar o número dos cromosomas: em cada caso se contam 22. Pela condensação progressiva, êles transformam-se em cromosomas da metáfase (fig. 47).

Ao atingir esta forma, os cromosomas começam a afastar-se da parede, concentrando-se no plano equatorial do núcleo; no início ainda irregularmente (est. 9, fig. 48); todos êles orientam-se, mais tarde, colocando os seus eixos longitudinais paralelos entre si e verticalmente ao plano citado. Êste é determinado pela atividade dos centríolos que, sùbitamente, se tornam visíveis, surgindo em pontos opostos e formando os fios externos e internos da figura dos fusos. Imediatamente antes dêstes "fios polares" atingirem a membrana nuclear, esta se dissolve de modo que a placa equatorial, com os 22 cromosomas, encontram-se livremente na célula, ligada afinal, por meio de fusos, aos centríolos (figuras 49 e 50). Os mitocôndrios se mantêm distribuídos uniformemente no interior do protoplasma. Durante a passagem da metáfase para a anáfase, os fusos começam a encurtar-se; os cromosomas dividem-se no seu próprio equador e as duas novas placas afastam-se uma da outra. Entre elas, aparecem agora os fusos centrais e periféricos que, ligando os dois centríolos, não tinham contato com os cromosomas (fig. 51). Quanto mais a distância entre as duas placas aumenta tanto mais os cromosomas aproximam-se (fig. 52). Neste meio tempo, a membrana celular começa a formar um estrangulamento no plano do equador (fig. 52). Ao entrar na telófase (fig. 53), o estrangulamento atinge o "cilindro" formando fios centrais. Nesta altura, correspondendo ao plano do equador da célula, cada fio produz um espessamento, em forma de um pequeno nó (já visível na figura 24). Tôdas estas dilatações entram em contacto entre si, formando uma placa que, porém, ainda não representa as novas membranas celulares, pois estas atingem o feixe de fusos centrais por cima e por baixo dêste plano (fig. 54).

As células centrais agora se afastam uma da outra, enquanto que o feixe dos fios centrais se releva parcialmente das mesmas e forma um estrangulamento na altura da placa de reforçamento onde, afinal, a ligação se rompe. Com isto, as duas células novas tomam um aspecto piriforme (fig. 55). Segundo tudo indica, esta placa de reforçamento serve para fechar o lugar do rompimento das duas células. Os remanescentes do feixe ainda podem ser observados muito tempo depois, nas células, sob a forma de uma condensação que diminui aos poucos, até desaparecer. Depois, quando as células começam a se arredondar e a crescer, época esta em que elas novamente se aproximam, encostando-se uma à outra, ajustando as suas superfícies externas, também já desapareceu a cicatriz que existia nos pontos onde se deu o rompimento definitivo, por ocasião da divisão celular. Durante a divisão da célula, uma das massas cromáticas-filhas se condensa fortemente, formando um só corpo em cada pólo celular (fig. 53) mas que, logo após, começa a dividir-se, dispersando-se na sua área nuclear, formando fios que depois se dissolvem em grânulos. A área nuclear já é vista com mais nitidez do protoplasma, envolvendo-se por nova membrana. Os mitocôndrios distribuem-se uniformemente, sem deixar entrever uma organização, nas duas células novas.

Depois de curto período de repouso, época esta em que ainda tem lugar alteração no interior do núcleo (reconstituição do corpo de 8 valores, fig. 55), os dois espermiogônios secundários passam novamente por tôdas as alterações de uma divisão equacional, idêntica à que já foi descrita para o espermiogônio primário. Como resultado, encontramos então um grupo de 4 espermiogônios, correspondendo a um cisto-2^2, em cuja parede externa o sincício apical já inicia a formação da sua parede. Depois de mais outra divisão de multiplicação se forma um cisto-2^3, com 8 células que, terminada a telófase, se colocam ao redor de um ponto central, adaptando as suas formas de maneira a que cada célula se torne piriforme. Tôdas as extremidades apicais estão dirigidas para o centro (fig. 19); dêste modo, se forma um corpo esférico, de 8 células, que apresenta, num corte mediano, o aspecto de uma roseta. Nesta fase, os mitocôndrios acumulam-se nos pólos celulares, dispostos no centro da roseta, formando aí um conjunto central que cobre até os limites de cada célula (fig. 19, MC). Depois da divisão, que se verifica nos componentes do estádio-2^4, a forma da roseta pode ser ainda observada mas, apenas, pouco distintamente. A concentração dos mitocôndrios não mais existe; êles se encontram, como nos espermiogônios primários, espalhados uniformemente, sob forma de pequenos grânulos, por todo o protoplasma. Depois de um total de 8 divisões de multiplicação (figs. 22-23), chegamos ao estádio-2^8 com 256 espermiogônios que, crescendo, formam os espermiócitos que sofrem modificações características no interior do núcleo (veja adiante).

Devemos citar, neste ponto, algumas observações complementares no que se refere ao aspecto e à formação dos cromosomas, pois, aparentemente, os cromosomas espermiogonais se formam de modo diverso, em princípio, daqueles surgidos das duas divisões de maturação. Depois do aparecimento da fenda longitudinal nos cromosomas (figs. 41-43), as distâncias entre os grânulos sôbre os fios de linina, que aliás podem ser individualizados muito bem ao microscópio, começam a diminuir até que as partes cromáticas se fundem sôbre os fios, dando, assim, o aspecto das figuras 47 *a-c,* onde 1 e 1' correspondem às duas metades dos cromosomas, representando a zona clara mediana o plano da fenda. Pela diminuição que se verifica em seguida, no sentido do eixo longitudinal (fig. 47, d-g) a massa de cromatina vai condensar-se mais, até formar dois corpos (fig. 47 a) que estão ligados entre si, por uma zona clara que é atravessada por fios de linina. Êstes devem estar em correspondência com as ligaduras transversais entre os grânulos homólogos (figs. 41-43). Na figura 56, encontra-se um esquema dêste processo.

Durante a 8.ª divisão espermiogonal, houve uma diminuição do diâmetro da placa equatorial da metáfase do espermiogônio da fase-2^7, com 128 células (com 9,5 μ no espermiogônio primário) para apenas 3,5 μ (tab. 1 e fig. 29). Depois desta divisão, que vai dar origem ao estádio-2^8 com 256 espermiócitos em cada cisto, não se verifica, por enquanto, mais nenhuma outra, pois a célula e o próprio núcleo entram na prolongada fase do crescimento, durante a qual o diâmetro do núcleo se duplicará. Êste fato é apresentado na figura 28. Durante esta época, o conteúdo do núcleo sofre as alterações características que vão preparar os cromosomas para a 9.ª divisão que se verificará mais tarde.

b) *Espermiócitos*

Depois da 8.ª divisão espermiogonal, o núcleo não entra numa fase de descanço mas prepara a primeira divisão de maturação. Os *Triatominae* como quase todos os *Heteroptera,* não constituem um material muito apropriado para o estudo dos fenômenos da maturação, pois, por um lado, os núcleos são relativamente pequenos e os cromosomas mais ou menos uniformes, e, por outro, a série de observações é interrompida, justamente no ponto mais interessante e mais decisivo, em conseqüência de uma condensação completa da massa cromática, formando o chamado "emaranhado sináptico". Em *Triatoma infestans,* as coisas já se mostram de modo um pouco mais favorável, pois três dos pares dos cromosomas (A, B e C) sobressaem-se nìtidamente dos demais, pelo seu comportamento heteropicnótico; entretanto, êles também entram na formação do emaranhado sináptico.

A seqüência das fases preparatórias para a 9.ª e 10.ª divisões, divisões estas pelas quais a guarnição diplóide, com 22 cromosomas, é reduzida para o número haplóide de 11, fenômenos êsses que, em traços gerais, correspondem aos fatos descritos por WILSON (1912) para *Oncopeltus fasciatus* (*Lygaeidae*). O autor divide o intervalo que ocorre entre a 8.ª e a 9.ª divisões, em 10 fases distintas, que podem ser resumidas em 4 grupos. Em seguida,damos um resumo da concepção de WILSON sôbre o fenômeno, pois, em relação às fases preparatórias dos espermiócitos, para as duas divisões de maturação, podemos seguir o esquema traçado pelo mesmo:

1. Fase pressináptica apenas com ligeiro crescimento celular depois da 8.ª telófase:

a) retículo grosseiro de cromatina sem individualização dos cromosomas

b) formação de corpos cromáticos compactos, em número diplóide, compostos nìtidamente de grânulos

c) cada corpo cromático desenrola-se, dando um fio leptotênico

d) os fios do leptóteno se alongam, formando os fios do espirema, e se entrelaçam.

2. Fase de contração:

e) emaranhado denso de cromatina (emaranhado sináptico); estádio durante o qual tem lugar uma nucleinação e conjugação (síndese) dos autosomas (pseudo-redução) (correspondendo aos diplóteno e paquíteno — estádio de buquê dos *Orthoptera*).

f) dissolução do emaranhado, individualizando-se o número haplóide dos fios cromáticos (fios bivalentes do paquíteno); início do crescimento intensivo.

3. Fase dos cromosomas difusos:

g) transformação dos autosomas de número haplóide, dando origem a séries de grânulos, maiores ou menores, dispostos sôbre os fios de litina; continuação de crescimento celular.

4. Prófase da primeira divisão de maturação (meiose):

h) o plastosoma desaparece, nova nucleiação, condensação dos autosomas, fim do crescimento celular acentuado

i) formação de tétrades

k) condensação das tétrades e formação dos cromosomas bivalentes.

5. Metáfase da primeira divisão de maturação.

Neste resumo citado, não foram mencionados os heterocromosomas, pois em *Triatoma infestans* êles não têm correspondência no esquema descrito por Wilson para *Oncopeltus fasciatus*. Em seguida, descreveremos as observações feitas em *Triatoma infestans*, seguindo as 10 etapas da fase preparatória que precedem as divisões de maturação acima citada.

Estádio a:

A cromatina do novo espermiócito, resultado da 8.ª divisão dos espermiogônios, não se distribui dentro do núcleo recentemente formado, o que dá o aspecto de um núcleo em repouso mas, ao contrário, passa sem modificação para o estádio a: a maior parte da cromatina separa-se da massa cromática central (fig. 55) formando grânulos menores ou maiores que se distribuem sôbre os fios de linina, ligeiramente coráveis e que, do mesmo modo, se dispõem uniformemente por todo o núcleo (figs. 57 e 58). A parte restante da massa cromática representa um corpo compacto e que se mantém durante todo o estádio do retículo grosseiro (fig. 58). Não está ainda bem esclarecido se êste corpo heteropicnótico corresponde ao corpo de 8 valores do espermiogônio, pois nunca pôde ser observada num cisto-2^5 a formação do mesmo, como aliás, foi dito em relação às divisões antecedentes (por exemplo no cisto-2^5 na figura 55).

Estádio b:

As fileiras de granulações do retículo grosseiro começam a concentrar-se agora em certos pontos dos fios de linina, formando corpos cromáticos compactos cuja constituição por partículas pequenas continua bem visível, os seus contornos são irregulares e a sua coloração sempre aparece um pouco acinzentada, indicando, com isto, que os corpos são formados por conglomerados. Ao se verificar êste período dos corpos cromáticos compactos, tem início o estádio *b*. A massa heteropicnótica desaparece, restando em seu lugar, apenas, dois pequenos corpos ovais, com contornos nítidos e coloração bem escura. Trata-se, aparentemente, dos dois heterocromosomas heteropicnóticos que sempre ficam isolados e não possuem ligaduras de linina, nem entre si, nem com o retículo onde se encontram os corpos cromáticos restantes (figs. 50 e 60). Ao fim dêste estádio, os corpos cromáticos aumentam, tornando-se mais frouxos e menos coráveis, enquanto que os dois heterocromosomas permanecem com as formas e a afinidade aos corantes constantes.

Estádio c:

Cada corpo cromático compacto desenrola-se, dando um fio fino, ligeiramente encurvado, com granulações pequenas (figs. 61 e 62). Esta passagem só pode ser observada com dificuldade no nosso material, de qualquer modo não tão nìtidamente como foi apresentado por Wilson nas suas figuras. Entretanto, torna-se relativamente fácil verificar que o número dos corpos cromáticos é de 20, correspondendo assim ao número dos fios dêste estádio. Os fios, que podem ser chamados de leptotênicos, mantêm ligações entre si por meio de filamentos de linina, os quais não possuem partículas de cromatina. Não se pode dizer que se trate de um fio contínuo e resultante da junção de todos os cromosomas; a presença dos fios de linina, em geral, pode ser observada durante tôda a espermiogênese e indica a permanência do retículo de linina. Os dois heterocromosomas encontram-se ainda com a mesma forma que no estádio anterior, situados do lado de fora dos fios que estão ligeiramente emaranhados (fig. 62, X e Y).

Estádio d:

Durante um curto período (neste estádio raras vêzes existem mais do que 1 ou 2 cistos em cada folículo), os fios tornam-se muito finos e delicados, mais ainda do que os representados na figura 61. O estádio corresponde ao espirema. Não foi possível esclarecer, histològicamente, se êstes fios finos são o resultado de um alongamento ou de uma denucleinação temporária. Mas, logo depois, ao fim dêste estádio, os fios se espessam fortemente, encurtando-se e concentrando-se mais e mais no centro do núcleo (figs. 63 e 64). Êles possuem, ainda bem visíveis, as ligaduras de linina que os comunicam entre si. Também constituem, sem dúvida alguma, os fios univalentes que, sofrendo uma concentração crescente, já nos indicam o início do estádio seguinte. Os heterocromosomas se mantêm inalterados.

Estádio e:

No estádio "e", os fios se contraem ainda mais, emaranhando-se muito entre si (fig. 65). As ligaduras de linina podem ser observadas entre os laços do "novêlo" ainda frouxo (fig. 65, LB). Na segunda parte desta fase, todo o conjunto se contrai fortemente. Os heterocromosomas saem do mesmo e se colocam lateralmente na zona periférica clara, sem cromatina (fig. 66, HZ). Agora não mais se conseguem observar as ligaduras de linina; na parte central concentrada, podem ser vistas estruturas, apenas pouco nítidas, que se distinguem uma das outras pela sua afinidade diferente aos corantes. Nunca se puderam observar formações especiais no interior no novêlo sináptico contraído de modo que ficamos completamente sem informações quanto aos fenômenos que ocorrem durante tal estádio. Procuramos destruir o emaranhado central por meio de esmagamento mas, mesmo assim, o resultado foi sempre negativo, pois o material se partia em fragmentos indefiníveis. O novêlo permanece presente durante muito tempo pois é encontrado em cada folículo, em numerosos cistos vizinhos, sempre com o seu aspecto inalterado.

Estádio f:

As coisas á se tornaram menos complexas depois do desenrolamento do novêlo sináptico, e que ocorre neste estádio. Agora aparecem novamente fios, com afinidade intensa para a hematoxilina, formados por filamentos nìtidamente duplicados (est. 9, fig. 67, est. 10, figs. 68-70), com grânulos de cromatina maiores ou menores, distribuídos uniformemente sôbre os mesmos. Quanto às partículas maiores pode certificar-se que as que se justapõem sôbre os pares de fios são sempre do mesmo tamanho, estando unidas entre si por ligaduras finas de linina e possuindo os tais fios laterais que se vão comunicar com as granulações de outros fios (fig. 70). A formação dos fios duplos ,sem dúvida, é um dos resultados da fase de contração onde ocorre a síndese (conjugação) dos cromosomas homólogos. Sendo o novêlo do estádio "e" muito denso, não podemos bservar o processo da síndese, de modo que nada pode ser dito sôbre o modo pelo qual ocorre. Mas, pelo aspecto histológico dos fios duplos do estádio "f" podemos concluir, de maneira indireta, que se verifica uma parassíndese (conjugação paralela), pois a formação da fenda longitudinal secundária sòmente ocorre muito mais tarde no início da diacínese (veja abaixo). O fio duplo citado pode ser composto simplesmente por dois cromosomas paralelos; com isto, o espaço entre os componentes forma a fenda longitudinal primária (fenda da síndese). Contam-se neste estádio sempre 7 fios. Êles originam-se com ligeira emissão de alças, de um corpo compacto de cromatina, colocado sempre perifèricamente (figs. 67 e 69, 5-W). Como será provado mais tarde, êste se origina da fusão dos três grandes autosomas A, B e C e dos dois heterocromosomas, daí encontrarmos sòmente 7 fios de autosomas no paquíteno.

Estádio g:

Enquanto o corpo cromático compacto mantém inalterada a sua forma mais ou menos variável (fig. 71 b), os fios duplos se alongam no início dêste estádio. Os grânulos, de posição oposta, aos pares, aproximam-se entre si (fig. 71 *a* ec), começando a tornar-se menos nítidos, o mesmo ocorrendo com o fio de linina. O conjunto dá a impressão de que os fios de cromatina sofreram uma embebição mas, aparentemente, todos os fios se mantêm individualizados em tôda sua extensão (figs. 71 e 73). Neste estádio, a célula e especialmente o núcleo sofrem um crescimento rápido e intenso (compare as figuras 72, 73 e 74). É interessante analisar êste estádio dos cromosomas difusos do ponto de vista da histologia geral. Sabemos que os processos de regeneração e crescimento do corpo protoplasmático de uma célula são regulados por substâncias partidas do núcleo. Em células glandulares, a regeneração do protoplasma, depois da fase secretorial, começa ao mesmo tempo ou, imediatamente depois, que se verificou uma expulsão de substâncias líquidas do núcleo. No nosso caso, ou seja no estádio *d*, também ocorrem modificações importantes no interior do protoplasma, provocadas por condições inerentes da própria célula, pois, em cistos vizinhos, banhados pela mesma testicolinfa, êstes processos não se verificam do mesmo modo e simultâneamente em todos êles. A fonte que controla o crescimento do protoplasma só pode ser o próprio núcleo. É de se supor que um núcleo com aspecto de "repouso" — considerando-se a disposição da sua cromatina — está mais apto para orientar estas modificações do que um outro, com os cromosomas mais ou menos delimitados, o que indica que os ácidos nucléicos, em sua maior parte, estão fixados ou inativodos nos mesmos. Sabemos também que o núcleo, quando em repouso, não está absolutamente inativo, mas sim, ao contrário, que êle se está preparando para poder eliminar as citadas substâncias líquidas (provàvelmente ácidos nucléicos ou seus derivados). Desta maneira, pode interpretar-se o estádio dos cromosomas difusos como uma fase ativa, intercalada na prófase, e que tem a cromatina grandemente denucleinada.

Estádio h:

Ao se terminar o crescimento, o núcleo inicia novamente a fase preparatória da primeira divisão de maturação. Neste estádio (diacínese), os grânulos difusos de cromatina primeiro se concentram, formando numerosos conglomerados uniformemente dispersos no protoplasma (fig. 72) e que depois se reúnem na formação de 7 corpos irregulares, menores ou maiores (figs. 73 e 74). O corpo compacto de cromatina originado pela fusão dos três macrocromosomas A, B e C e dos dois cromosomas sexuais X e Y por ora ainda mantém a sua forma. A reunião das granulações de cromatina, para a formação dos 7 corpos, tem lugar, provàvelmente, ao longo dos fios de linina, pois no início dêste estádio (figs. 72 e 73) observa-se que os mesmos ainda estão ligando aos grânulos, aparentemente espalhados, desordenadamente, no núcleo.

Estádio i:

Os 7 corpos, ainda irregulares, dos outosomas, começam agora a sua transformação definitiva em cromosomas pròpriamente ditos (tétrades) da primeira divisão de maturação. O corpo compacto de cromatina ainda se mantém inalterado e, só mais tarde, inicia lentamente a fragmentação em seus constituintes promitivos (figs. 75 *a-d*).

A formação das tétrades definitivas, e que dão origem aos 7 cromosomas isolados e não heteropicnóticos, é um processo contínuo, iniciando-se êste com a síndese e tornando êste estádio "i", a diacínese pròpriamente dita, mais evidente. No estádio "h", a massa cromática de cada cromosoma, que até então era difusa e uniformemente distribuída sob a forma de granulações finas sôbre os fios de linina, foi concentrada (fig. 74). Agora a condensação continua; histològicamente não é possivel provar se se trata de uma nucleinação ou de um processo de desidratação. Seria um problema interessante de pesquisa microquímica verificar se a quantidade de ácidos nucléicos aumenta durante esta concentração ou se permanece a mesma. A condensação não se realiza uniformemente sôbre todo o corpo cromático, porém faz-se mais intensamente nos bordos, enquanto que, no centro, inicialmente, aparece uma zona mais clara (fig. 76) que se torna mais e mais transparente até o desaparecimento de tôda a substância, dando como resultado a formação de um corpo anular (figs. 77 e 78); saindo dos lados dêste, existem fios de linina dispostos radialmente (fig. 77, no centro). A largura do anel não é regular, apresentando alargamentos simétricos em forma de asas. Êle é pouco visível logo depois de se formar (fig. 76), tornando-se mais nítido posteriormente (figs. 77 e 78). Estas expansões encontram-se sempre dispostas regularmente, sendo os pares da mesma forma. Os segmentos homólogos situam-se sôbre linhas paralelas ao eixo de simetria das tétrades (fig. 78, de a B) que, provàvelmente, correspondem à fenda da síndese (no caso da parasíndese) (veja acima). A identificação do citado eixo de simetria com a fenda da síndese só pode ser aceita sob restrições, pois durante o estádio dos cromosomas difusos, os fios conjugados (depois da fase de contração) não aparecem mais sob a forma de fios duplos. Esta restrição é válida para tôda a formação das tétrades, bem como, para a questão das pré o post-redução. No estádio das tátrades anulares, aparece mais uma fenda longitudinal, em posição vertical à primeira. Dada a sua posição, ela é visível sòmente em tétrades vistas rigorosamente do lado (fig. 79, na fig. 77 um pouco esquematizado). Êste fato conduz, em linhas gerais, a aceitar a existência da parasíndese, constituindo entretanto apenas uma prova indireta. A fenda longitudinal secundária só pode ser observada por pouco tempo(durante a fase mediana da diacínese, antes do comêço da fragmentação do corpo compacto de cromatina (fig. 77). Pouco depois, com o primeiro sinal da desintegração do corpo citado, as metades de cada cromosoma aproximam-se tanto que a fenda desaparece (fig. 78). Ao mesmo tempo, o diâmetro do anel da tétrade diminui, ficando dêsse modo aumentados os seus grânulos. O anel, em geral, compõe-se de 4 grânulos duplos (figs. 80 e 81 a) ligados entre si por partes de cromatina mais fina.

Estádio k:

Durante o último estádio, os gránulos duplos reúnem-se, formando 4 partículas grandes (figs. 80 *b* e 81 *b*). Em seguida, verifica-se um encurtamento em direção do eixo da simetria, aliás da fenda da síntese, e os grânulos de cada par se alongam (figs. 80 *c* e 81 *c* e *d*) e juntam-se ìntimamente um ao outro. O encurtamento prossegue ainda mais, até resultar a forma das figuras 80 *e*, da qual se pode concluir que apenas um encurtamento do eixo de simetria é suficiente para provocar uma convexidade dupla do centro dos cromatídeos, chegando assim o cromosoma á sua forma definitiva. Durante êstes processos, que começam com a contração da massa cromática, no início da diacínese, os cromosomas situam-se de encontro à parede do núcleo.

Na mesma posição encontra-se o corpo compacto de cromatina; apenas êle penetra, em virtude do seu tamanho, profundamente no interior do núcleo. Êle é formado durante a fase do novêlo sináptico e permanece durante todo o diplóteno e paquíteno, com contornos nítidos e mesma forma (figuras 67, 69 e 71). Durante o estádio dos cromoso mas difusos, a sua delimitação torna-se imprecisa (fig. 72). No início da diacínese, êle permanece compacto, mas novamente, com contornos nítidos. Na segunda metade da diacínese, com 7 autosomas isolados, já no estádio de anéis (fig. 77), êle começa a partir-se, formando três fragmentos (fig. 76). Estas partes, ainda ligadas entre si (est. 11, fig. 83), deixam observar os mesmos aspectos encontrados nos 7 autosomas: a parte central de cada fragmento torna-se mais clara, até a formação de três anéis, composto cada um por 4 grânulos duplos unidos entre si por ligaduras de linina, inicialmente largas (fig. 83) que, mais tarde, vão diminuir. Êste processo, observado em vários cistos, é representado na figura 75 *a-k*. As ligaduras continuam a diminuir, até restar sòmente um fio de linina fino, igual ao que foi encontrado em estádios antecedentes, porém sob uma forma menos nítida (fig. 75 *g-i*). Os três fragmentos, que como agora ficou provado, correspondem aos três grandes autosomas restantes, sofrem a transformação em cromosomas definitivos da metáfase, mais ràpidamente que os outros 7, de modo que, no momento da formação da placa equatorial, todos os dez autosomas entram, simultâneamente, no mesmo estádio evolutivo. Durante o deslocamento para a composição da citada placa, não foi observada uma heterocínise dos três grandes autosomas.

Os dois heterocromosomas deixam observar um comportamento bem característico, fato que já foi mencionado por SCHREIBER e PELLEGRINO: no momento do início da fragmentação do corpo cromático compacto, encontram-se, por ocasião da existência das ligaduras de linina ainda largas, dois corpos de cromatina, um maior e o outro menor (figs. 75 *i* e *l*, 83 e 75 *k* e *h* onde, em virtude da superposição, o fato não se mostra muito nítido) incluídos nas ligaduras intercaladas, porém, fora dos três anéis. Êstes dois corpos, durante o encurtamento das ligaduras, saem finalmente do fio de linina (fig. 75 *l*), penetrando, logo em seguida, sob a forma de heterocromosomas, no centro da placa equatorial. Ambos, em geral chamados X e Y, não deixam observar a transformação em tétrades, pois formam, a seguir, cada um, um corpo redondo em que não pode ser observada a fenda longitudinal. Sendo os mesmos mais tarde divididos em segmentos iguais na anáfase da divisão seguinte, teremos que considerá-los como díades que se originaram, de cada vez, de duas metades iguais, separadas pela fenda secundária.

Com a formação dos 12 cromosomas, a prófase está terminada. A composição da placa equatorial, que agora se verifica, efetua-se muito depressa, pois, nos cortes, os estádios de transição, raras vêzes são encontrados. Os cromosomas definitivos, com seu material constitutivo fortemente condensado, colocam-se na parede nuclear, também o fazendo os três macro e os dois heterocromosomas.

Pouco antes do fim da condensação dos cromosomas, aparecem os dois centríolos, em pontos opostos, formações estas até então mal visíveis. Quase ao mesmo tempo, a membrana nuclear se dissolve, simultâneamente, e os cromosomas são ligados aos filamentos polares dos centríolos que também aparecem, sùbitamente, na mesma ocasião. Na figura 94 é apresentado um dêstes conjuntos de fusos, visto de cima. Concomitantemente todos os cromosomas dispõem-se num plano perpendicular ao eixo dos fusos. Todos êstes fatos ocorrem tão ràpidamente que não é possível observar a seqüência dos processos. Êste conjunto de orientação e deslocamentos, provàvelmente se efetua de maneira repentina. Depois dos cromosomas se colocarem no equador, formando a placa equatorial, os processos, aparentemente, se retardam: no início, os cromosomas se dispõem desordenadamente (fig. 84); mas, lentamente, êles começam a seguir uma orientação típica para as divisões de maturação: os autosomas formam um anel no plano do equador, incluindo-se os dois heterocromosomas no centro do mesmo (figs. 85-87). Êstes dois encontram-se, apenas excepcionalmente, no mesmo plano dos outros, colocando-se, de ordinário, o menor, Y, abaixo do maior, X, visto de cima, e em geral, um pouco deslocado para o lado, mas, muitas vêzes, até mesmo verticalmente abaixo de X, de modo que, neste caso, são visíveis apenas 11 cromosomas na placa equatorial. A seqüência dos 10 autosomas no anel é variável de célula para célula.

Vistos de lado, os autosomas apresentam-se sob a forma de curtos bastões, com extremidades arredondadas (est. 11, figs. 88, 89; est. 12, fig. 90), enquanto que vistos de cima, têm os seus contornos mais ou menos ovais. No seu equador, encontra-se uma zona clara que — feitas as restrições acima apontadas — corresponde à fenda da síndese. Esta fenda não pode ser demonstrada nos heterocromosomas (figs. 84 e 91). Procedendo-se a uma diferenciação intensa aparece, vista lateralmente, uma outra fenda perpendicular à zona mediana, correspondendo ao espaço, caracterizado na figura 82, formado pelo afastamento das partes centrais dos dois cromosomas durante a formação das tétrades. Vista de cima, também sòmente depois de forte diferenciação, pode observar-se uma outra zona clara, no centro dos cromosomas, especialmente naqueles que acabam justamente de entrar na placa equatorial (fig. 84). Esta zona devia corresponder à fenda secundária, ou seja à fenda equacional, apresentada para as tétrades nas figuras 77 e 79.

Depois de uma diferenciação mais fraca, os cromosomas da placa da metáfase se apresentam ligados entre si por fios de linina que têm pouca afinidade para a hematoxilina, o que também já foi dito, por ocasão da metáfase dos espermiogônios. Vistos de lado, os cromosomas podem ser classificados, quanto ao tamanho, em grupos (fig. 90): 3 grandes autosomas (A, B e C), 2 autosomas médios (D e E), 5 pequenos autosomas (F—K) e 2 heterocromosomas (X e Y).

As duas extremidades dos autosomas, por ocasião da placa equatorial, estão ligadas cada uma aos centros dos pólos das figuras dos fusos por meio de dois fios (figs. 88, 89 e 92) que se fixam no meio do cromosoma, sugerindo-se que a zona mediana dos autosomas corresponda à fenda da síndese. Não foi possível provar — mas tudo indica — que os fios se fixam cada um, em uma das metades das tétrades, que se originam em virtude da fenda secundária. Os heterocromosomas possuem, em cada extremidade, um só fuso. Ao entrar na anáfase, os dois heterocromosomas dividem-se no sentido transversal (figs. 88 e 89). Não pode ser observada uma linha de divisão preexistente. Depois de pouco tempo, também as tétrades se dividem na zona mediana (fig. 92), e afastam-se, indo para os pólos dos fusos. As duas metades de cada cromosoma ainda permanecem ligadas, entre si, por um fio. De acôrdo com o que se verifica na anáfase, tem-se a impressão de que a separação se efetuou com uma certa violência, pois, ao longo dos fios do conjunto dos fusos, ficam aderidas porções de cromatina como se a tétrade tivesse sido partida bruscamente (fig. 92). Estas, mais tarde, se dirigem lentamente para o corpo das novas díades e, ao terminar a anáfase, novamente se reuniram ao mesmo. Em seguida, ocorre o arredondamento das diades e, simultâneamente, a formação do novo corpo cromático compacto, em cada núcleo-filho (fig. 93 *a*). Agora, também, o corpo celular começa a estrangular-se no plano da antiga placa equatorial e as novas células separam-se, como já foi descrito para os espermiogônios. Com isto termina a telófase. As metades dos fusos contraem-se, formando um corpo denso, mais ou menos redondo, dentro da célula e, simultâneamente, surge nova membrana nuclear.

Sendo os dois autosomas conjugados, agora separados pela divisão, ao longo da fenda da síndese, a primeira divisão de maturação é reducional — feita sempre a restrição mencionada acima. Bem diferente é o comportamento dos heterocromosomas que não se conjugaram e foram divididos, de acôrdo com a linha que corresponde à fenda secundária dos autosomas; logo, a divisão dêstes últimos é equacional.

c) *Prespermídeos*

Depois da primeira telófase, o corpo compacto de cromatina, formado por todos os cromosomas (fig. 95 *a*), divide-se em fragmentos cromáticos de contornos pouco nítidos, acham-se em posição periférica e em número haplóide. Os restos dos fusos ainda continuam a encurtar-se. O centríolo divide-se e as duas metades descrevem cada uma um ângulo de 90°, em sentidos contrários, até ocuparem os dois pólos opostos do núcleo; isto leva à suposição de que êles se afastam um do outro em virtude das suas cargas elétricas (fig. 95 e 96). Ao mesmo tempo, o núcleo se torna e descreve um ângulo de 90°, colocando-se numa posição excêntrica no interior da célula. Ainda é completamente inexplicável se esta torção é um processo cinético do próprio núcleo, ou, se talvez, é uma conseqüência do encurtamento do resto dos fusos.

Enquanto que o último continua a encurtar-se, formando, finalmente, uma condensação do protoplasma, sem delimitações nítidas e, em forma de esfera, que, lentamente vai desaparecer, a cromatina se condensa novamente e formam-se imediatamnte os cromosomas da segunda divisão de maturação. Êles apresentam, quando vistos lateralmente, o mesmo aspecto que os da primeira divisão, sòmente que, agora, as medidas diminuem consideràvelmente (fig. 97). A zona mediana e a fenda vertical se encontram com as mesmas formas que as dos cromosomas da primeira placa equatorial. Desta maneira, muitas vêzes, torna-se difícil a diferenciação entre as duas divisões, o que porém é facilitado se observamos a placa de cima: enquanto que os autosomas da placa da primeira divisão apresentam os contornos bem ovais, com uma zona clara no eixo maior — particularmente bem visível nos grandes A, B e C — os da segunda placa equatorial são precisamente arredondados, nunca possuindo esta zona clara (est. 12, fig. 97, est. 13, fig. 99). Com isto, vistos nesta posição, êles dão o mesmo aspecto que os heterocromosomas da primeira divisão. Depois de uma diferenciação ligeira, se observam, olhando de cima, bem como do lado, fios de linina entre todos os cromosomas, característica também encontrada na primeira placa equatorial. Examinando-se o conjunto de cima, os fusos, projetados sôbre o plano da placa equatorial, podem fazer crer que se trate dos fios de linina. Temos o mesmo aspecto como na primeira divisão, só que tôdas as medidas são menores. X e Y encontram-se um acima do outro (fig. 100), circundados pelo anel dos 10 autosomas. Também aí, como na primeira divisão, ocorrem irregularidades na formação da placa equatorial de maneira que um ou dois dos autosomas entram no anel (fig. 98 *a*). X e Y em geral estão situados acima e abaixo do plano equatorial (figura 100). Todos os autosomas estão ligados às zonas que circundam os centríolos por um só fuso que se estende para os dois pólos; os heterocromosomas, ao contrário, estão fixados cada um a apenas um dos pólos por um só fio (fig. 100).

Ao início da anáfase, os autosomas se dividem em sua zona mediana e as metades translocam-se ràpidamente aos pólos. X e Y não se dividem; emigram, mais lentamente, cada um para o seu pólo (figs. 101 e 102). Esta heterocínese dos heterocromosomas foi observada sòmente na segunda e, nunca na primeira divisão de maturação. Neste estádio, em geral próximo do plano da placa equatorial, encontra-se pequeno corpo esférico, de limites bem acentuados (figs. 101 e 102), já observado em fases antecedentes mas que então, tinha uma afinidade menor para a hematoxilina do que na fase agora descrita. A sua função é completamente obscura. Na telófase, todos os cromosomas juntam-se, formando um corpo de cromatina, denso (fig. 103), e a divisão da célula realiza-se, como foi descrito acima para os espermiogônios. O número dos cromosomas importa agora em 11 (10 autosomas e 1 heterocromosoma).

Os espermídeos, assim formados (figs. 105 e 106), reconstroem, durante a fragmentação do conglomerado de cromatina, a sua membrana nuclear (figs. 107 e 108). Estas porções de cromatina, que assim se formam, mais oumenos uniformes, encontram-se sempre em mesmo número que os cromosomas haplóides, montando a 11; enquanto que os 10 autosomas apresentam contornos mais e mais difusos, apenas o heterocromosoma, agora único, permanece bem limitado e, na sua forma original. Com isto, terminam as divisões de maturação e o espermídeo entra na fase de espermiohistogênese para formar, finalmente, o espérmio definitivo.

Durante as prófases das duas divisões de maturação, o aparelho de Golgi, em forma de retículo grosseiro, coloca-se sôbre uma superfície esférica que circunda o núcleo, à pequena distância (est. 14, figs. 109 e 110). O melhor método para tornar visível o citado aparelho foi a fixação por O_8O_4 (0.5% em ácido crômico a 1%) com 10 cm^3 de sublimado (soluto saturado aquoso) para cada 100 cm^3 do ácido. Uma coloração subseqüente pela hemoxilina férrica não altera em nada a tonalidade já escura do aparelho de Golgi, enquanto que os mitocôndrios se tornam negros e cobrem, em grande parte, o citado aparelho. No início da metáfase, o aparelho concentra-se no plano da placa equatorial (fig. 111, GA). Aí tem lugar uma divisão cujo mecanismo não pôde ser observado, entretanto, durante a anáfase, por ocasião dos cromosomas aglomerados, aparece, de cada vez, uma concentração da substância do aparelho de Golgi, em quantidades aproximadamente iguais, de cada lado da célula (fig. 112, GA). Os mesmos fenômenos também na telófase (fig. 113, GA).

Durante a diacínese, os mitocôndrios, distribuídos em pequenas partículas sôbre o protoplasma durante os processos preparativos que precedem a prófase, concentram-se no interior e no exterior da esfera do aparelho de Golgi (fig. 109, parte esquerda, MI). Na metáfase, êles colocam-se sôbre a superfície da figura dos fusos, acumulando-se, entretanto, mais ou menos intensamente, nos pólos (fig. 111, MI). Essa concentração nestes pontos vai aumentando durante a anáfase e telófase (figs. 112 e 113) mas, aparentemente, a divisão da massa dos mitocôndrios não se efetua com a mesma precisão como acontece com os cromosomas (fig. 103).

A segunda parte dêste trabalho (sôbre a espermiohistogênese) tratará da distribuição exata dos vários estádios evolutivos em relação ao comprimento total do folículo.

A formação dos cromosomas da metáfase dos prespermatídeos merecerá um estudo mais acurado. Já vimos que os autosomas, durante a primeira divisão de maturação, foram divididos ao longo da fenda da síndese (fig. 92). As díades, formadas pelo fendilhamento longitudinal de cada cromosoma, encaminham-se cada um para o seu centríolo. Denominando as metades da grande tétrade A de 2a e 2b, encontraremos, na telófase, perto de um dos centríolos, a díade 2a e do outro, a 2b. Cada díade, correspondendo ao esquema apresentado na figura 82 — sob a restrição já estabelecida na parasíndese — compõe-se de dois cromatídeos, curvados em forma de ferradura, bem ajustados entre si; cada um está ligado com o seu centríolo por um fuso. A ligação entre êles se interrompe no momento da formação da nova membrana nuclear, depois da primeira telófose. As díades definitivas podem nascer das díades da primeira telófase (chamada díades paralelas), por dois processos: repetimos que a díade da metáfase se compõe de dois cromatídeos em forma de ferradura, ligados entre si pelas duas extremidades, dirigindo-se um dos arcos para cima e outro para baixo. Para chegar a esta forma, temos que admitir uma torção, no plano horizontal, de 90° para cada lado, como primeira possibilidade de formação das díades definitivas. Com isto, tôdas as extremidades dos cromatídeos perdem a ligação entre si. Pela segunda hipótese, chegamos à forma definitiva por meio de um movimento giratório de 90° para cada cromatídeo, tomando para eixo de rotação a linha que liga tôdas as extremidades dos cromatídeos. Assim as extremidades permanecem unidas. Esta segunda possibilidade parece a mais provável em virtude de alguns aspectos dos núcleos da intérfase, que podem indicar o movimento giratório, mas estas observações não foram feitas em número suficiente de vêzes para provar esta suposição. Considerando a eletricidade estática dos cromatídeos como a fonte da energia para o aludido processo cinético, êste segundo caminho ainda se torna mais provável: cada um dos 4 cromatídeos possui a mesma quantidade de eletricidade estática. Na tétrade, encontram-se duas unidades elétricas, em equilíbrio, de cada lado. Depois da divisão, ao longo da fenda da síndese, observamos, em cada díade de cada vez, 2 cromatídeos da mesma carga e em posição paralela. Correspondendo às unidades elétricas equivalentes, que se repelem, nasce um movimento giratório em tôrno do eixo que passa através das extremidades dos cromatídeos. Estas considerações teóricas ainda não foram definitivamente comprovadas por observações em número suficiente.

5. RESUMO

Neste trabalho, faz-se o estudo das estruturas anatômica e histológica do testículo de *Triatoma infestans*. Da espermiogênese, descrevem-se apenas as fases que medeiam entre a formação dos espermiogônios e a dos espermídeos (espermiocitogênese). A espermiohistogênese bem como as anatomias do *vas deferens* e das glândulas anexas serão tratados na segunda parte dêste trabalho, já em preparo.

O testículo de *Triatoma infestans* possui 7 folículos dos quais cada um se abre num *vas efferens* próprio, curto, desembocando êstes num único *vas deferens* geral. Na zona de transição entre *vas efferens* e *vas deferens,* encontra-se sempre um conjunto de massas tissulares que se estão necrosando em virtude da decomposição das paredes dos cistos. Em conseqüência, os feixes de espérmios são libertados e passam através do *vas efferens* para o *vas deferens*. As substâncias líquidas que então se formam, resultado da necrose, são reabsorvidas pelo epitélio do

vas efferens, entrando novamente em circulação na hemolinfa; o epitélio possui um rabdório muito longo.

A parte superior do conteúdo de cada folículo dispõe-se ao redor de grande célula apical cuja função principal deve ser a de uma atividade reguladora que está relacionada com a diferenciação das células do conjunto germinativo em espermiogônios primários e em núcleos das paredes dos cistos.

Nos espermiogônios, são verificadas 8 divisões de multiplicação, o que vai dar a formação de 256 espermiócitos, número êsse que depois das duas divisões de maturação, que se seguem, originará 1 024 espermídeos. Em seguida, são descritos os fenômenos que ocorrem durante a prófase e as duas divisões de maturação. Temos que admitir a existência de uma parasíndese. Pela formação das tétrades, pode-se concluir que a primeira divisão é reducional e a segunda equacional, existindo, pois, uma pré-redução.

Triatoma infestans possui 22 cromosomas no espermiogônio, dos quais 2 são heterocromosomas, sendo X, o maior e Y, o menor, pois, por observações comparadas de oogônios, verificou-se que o grande está ausente, enquanto o pequeno existe em número duplo.

Os autosomas da guarnição equatorial, reduzidos pela primeira e segunda divisões de maturação, podem ser distribuídos, quanto ao seu tamanho, em três grupos: 3 grandes (A, B e C), 2 médios (D e E e 5 pequenos (F, G, H, I e K). A, B e C, bem como os heterocromosomas, são heteropicnóticos, formando, tanto nos espermiogônios como nos espermiócitos, depois da sinapsis, um corpo de 8 valores, respectivamente de 5 valores, corpos êsses que permanecem fortemente condensados, mesmo quando os outros cromosomas se individualizam ou quando formam os cromosomas difusos. O estádio dos crmosomas é analisad e considerado como uma fase ativa durante o tempo do crescimento intensivo dos espermiócitos.

6. BIBLIOGRAFIA

Barth, R., 1954, Mem. do Instituto Oswaldo Cruz, Vol. 52

Boveri, Th., 1892, Sitz. ber. d. Gesellschaft f. Morphologie und Physiologie in Muenchen, Vol. 8

Cholodkowski, N., 1888, Zoolog. Anz., Jhrg. 11

Cholodkowski, N., 1889, Zeitschr. wiss. Zoolog., Vol. 48

Cholodkowski, N., 1905, Zeitschr. wiss. Zoolog., Vol. 82

Deegener, P., 1928, in: Schroeders Handbuch der Entomologie, Jena, 1928, Vol. 1

Demokidoff, K., 1902, Zoolog. Anz., Vol. 25

Depdolla, Ph., 1928, in: Schroeders Handbuch der Entomologie, Jena, 1928, Vol. 1

Escherich, K., 1894, Zeitschr. wiss. Zoolog., Vol. 57

Graber, V., 1891, Zoolog. Anz., Jhrg. 14

Gruenberg, K., 1903, Zeitschr. wiss. Zoolog., Vol. 74

Haecker, V., 1907, Ergebn. und Fortschr. der Zoolog., Vol. 1

Heymons, R., 1897, Zeitschr. wiss. Zoolog., Vol. 62

Heymons, R., 1899, Nova Act. Acad. Leopol. Carol., Vol. 74

Hirschler, J., 1928, in: Schroeders Handbuch der Entomologie, Jena, 1928, Vol. 1

Schreiber, G. et Pellegrino, J., 1948, Eigth Intern. Congr. Genetics, Stockholm (extractum)

Schreiber, G. et Pellegrino, J., 1950, Scientia Genetica, Vol. 3

Spichardt, N., 1886, Verhandl. des naturhist. Vereins des Rheinlandes, Jhrg. 43

Tannreuther, G.W., 1907, Zool. Jb. Anat., Vol. 24

Tichomirow, A., 1898, Zoolog. Anz., Jhrg. 21

Toyama, N., 1894, Bull. Coll. Agriculture Univ. Tokyo, Vol. 2

Wheeler, W.M., 1890, Journ. Morphol., Vol. 3

Wheeler, W.M., 1893, Journ. Morphol., Vol. 8

Wilson, E.B., 1912, Journ. of exper. Zoolog., Vol. 13

7. ABREVIATURAS NAS FIGURAS

A	primeiro macrosoma
AH	cápsula externa do testículo
AL	autosomas com fenda longitudinal
APZ	célula apical
B	segundo macrosoma
C	terceiro macrosoma
CAP	aparelho copulador
CRR	restos de cromatina
Cyst	cistos
D	cromosoma de porte mediano
DG	*ductus glandularum*
Div.	divisões
E	cromosoma de porte mediano
EF	fio terminal
EVD	epitélio do *vas deferens*
EVE	epitélio do *vas deferens*
F	pequeno cromosoma
FE	epitélio do folículo
FO	folículo
FT	esferas de substâncias gordurosas
G	cromosoma pequeno
GA	aparelho de Golgi
H	cromosoma pequeno
h	focalização de um plano elevado
HI	hilo
HL	hemolinfa
HZ	zona transparente marginal
I	cromosoma pequeno
IH	cápsula interna do testículo
K	cromomosma pequeno
KL	conjunto germinativo apical
LB	ligaduras de linina
M_{1-4}	primeira a quarta glândulas acessórias
m	focalização de um plano de situação mediana
MC	mitocôndrios
MP	membrana própria

MT	membrana do testículo
N_1	núcleo do epitélio do testículo
N_2	núcleo do pseudo-epitélio traqueal
N_3	núcleo do epitélio do folículo
NH	núcleo dos amebócitos
NK	região de necrose
NL	líquido nuclear
NN	grupos dos futuros núcleos das paredes dos cistos
NNK	núcleos das paredes dos cistos
PAS	protoplasma do sincício apical
PS	espermiogônio primário
PSA	espermiogônio primário durante a anáfase
PSP	prespermídeo
QFA	fio de cromatina em corte transversal
RH	rabdório
RMU	músculo anular
SBB	feixe de espérmios
SCH	alça de cromatina
SPE	espérmios
SPI	espermídeos
SPO	espermiogônios
SPY	espermiócitos
t	focalização de um plano inferior
TE	testículo
TR	traquéias
VA	vacúolos
VD	*vas deferens*
VE	*vas efferens*
VS	*vesicula seminalis*
X	heterocromosoma grande
Y	heterocromosoma pequeno
ZW	parede dos cistos
ZWK	núcleos das paredes dos cistos
ZY	cistos
ZYI	cisto isolado
ZYR	acumulação dos restos das paredes dos cistos, em necrose lenta
1 e 1’	metades de cromosomas
1 — 7	primeiro a sétimo folículos
2^2—R	roseta-2^2
2^3—R	roseta-2^3
2^7—ZY	cisto-^{7}
5—W	corpo de cinco valores
8—W	corpo de oito valores
IIa—VIIa	segundo a sétimo segmentos abdominais

(Nas legendas das figuras, são mencionadas as fixações empregadas; quando não há menção especial isto significa que foi utilizada na coloração apenas hematoxilina férrica, segundo HEIDENHAIN.)

LEGENDAS DAS FIGURAS

ESTAMPA 1

Figura 1 — Lado direito da aparelho reprodutor masculino, em posição normal, visto do lado ventral. As setas indicam o transcurso das alças do *vas deferens*. Em negro: *ductus glandularum*. O *ductus ejaculatorius*, curto, encontra-se no interior do aparêlho copulatório (CAP). 10:1.

Figura 9 — Corte longitudinal da parte apical de um folículo. À direita, as paredes do testículo e do folículo foram dilacerados pela navalha e, por isto, as duas paredes da cápsula testicular, se apresentam bem dilatadas. Helly. 3 000:1.

ESTAMPA 2

Figura 2 — Série de cortes esquemáticos da região da formação do *vas deferens*. Linha pontilhada: parede interna dos folículos; linha tracejada: epitélio dos *vasa efferentia;* linha contínua: epitélio do *vas deferens*. Em a) o *vas efferens* do primeiro folículo já originou o *vas deferens* (1); (2) e (3) representam os *vasa efferentia* dos folículos correspondentes, enquanto que os quarto a sétimo folículos permanecem inalterados. De b) a g) um folículo depois do outro vai desembocando no *vas deferens* até a formação definitiva dêstes em i). Gilson.

ESTAMPA 3

Figura 3 — O corte que corresponde ao esquema da figura 2 c). Indicação de todos os elementos como foi feito na figura 2. Nos folículos 5, 6 e 7 encontram-se feixes de espérmios maduros, no *vas deferens,* (1 e 2) espérmios. Gilson.

Figura 4 — Corte que corresponde ao esquema da figura 2 h). Gilson.

Figura 5 — Corte transversal da *vesicula seminalis,* cheia de massa de espérmios. Gilson.

Figura 6 — Corte transversal das quatro mesadênias (MI — MIV), um pouco acima do hilo, que se formará em X; também está visível a *vesicula seminalis*. Gilson.

Figura 7 — Corte transversal do *ductus glandularum,* um pouco abaixo do hilo. Gilson.

Figura 8 — Corte transversal do *ductus glandularum,* abaixo da reunião dos quatro canais. Gilson.

ESTAMPA 4

Figura 10 — Corte longitudinla como na figura 9. No meio, a célula apical circundada de rosetas com mitocôndrios centrais (acima da célula apical); à esquerda, conjunto das células germinativas, externamente à cápsula testicular. Helly.

Figura 18 — Parte de um corte longitudinal de um folículo com cistos em várias fases do desenvolvimento. Helly. 1 850:1.

Figura 19b — Fotografia de um cisto-2^4 em posição normal (corte); no centro, os mitocôndrios. Gilson.

Figura 26 — Partes de um corte longitudinal de um folículo, com cistos de espermiogônios e núcleos redondos da parede dos cistos. Helly.

ESTAMPA 5

Figura 11 — Espaço sanguíneo entre dois cistos, contendo esferas de substâncias gordurosas. Ácido ósmico com sublimado. 1 500:1.

Figuras 12-14 — Amebócitos do espaço sanguíneo, com mitocôndrios, entre os folículos de espérmios. Helly. 3 000:1.

Figura 15: — Amebócitos do espaço sanguíneo, com mitocôndrios, entre folículos de espermiogônios. Da Fano. 1 850:1. Os fios, provàvelmente, são partes do aparelho de Golgi.

Figura 16 — Esquema da parte final do folículo com parede da cápsula testicular e traquéias.

ESTAMPA 6

Figura 17 — Paredes do folículo e do cisto (cisto de espérmios quase maduros). Helly. 1 400:1.

Figura 19a — Roseta-2^3, na altura da célula apical, com acumulação central de mitocôndrios. Núcleos na fase de fios duplos, antes da divisão 2^3-2^4. A parede do cisto não foi desenhada. Gilson. 2 200:1.

Figura 20 — Cistos de espermiogônios de um folículo na fase-2^7. Helly-Delafield.

Figura 21 — Cisto-2^3, em metáfase (focalização alta), com a sua parecede. Helly. 1 150:1.

Figura 22 — Cisto-2^3, em análise, com a sua parede. Helly. 1 150:1.

Figura 23 — Cisto-2^5, em metáfase, com a sua parede (sem núcleo). Helly. 1 150:1.

Figura 24 — Parede de um cisto de espermídeos com núcleo lobado. Helly-Delafield. 1 850:1.

ESTAMPA 7

Figura 25 — Parede de um cisto de espermiócitos, em diacínese, com núcleo lobado. Helly-Delafield. 1 850:1.

Figura 27 — Núcleos da parede dos cistos-2^7 e 2^8. a) e b) vistos de cima. c) corte transveral. Helly-Delafield. 1 200:1.

Figura 28 — Crescimento de uma célula do leptópteno (pontilhado: a célula; em negro: o seu núcleo) até à célula da diacínese (contôrno maior); o núcleo em tracejado). Flemming. 3 000:1.

Figura 30 — Zona de transição entre o folículo e *vas efferens*. Helly.

Figura 31 — Zona de transição entre o epitélio do folículo e o do *vas efferens,* com a necrose das paredes dos cistos (em dilaceração produzida pela navalha. Helly.

ESTAMPA 8

Figura 32 — Núcleo necrótico da parede do cisto da zona de transição entre folículo e *vas efferens*. Gilson. 3 000:1.

Figura 33 — Núcleo, não diferenciado, do conjunto apical da extremidade do folículo. Gilson. 3 000:1.

Figura 34 — Transformação de um núcleo primitivo da parede dos cistos um núcleo definitivo. Flemming. 3 000:1.

Figura 35 — Núcleo de um espermiogônio primário em repouso (focalização média). Helly. 3 000:1.

Figura 36 — Início de leptóteno de um cisto-2^3 (focalização alta). Helly. 3 000:1.

Figura 37 — A mesma célula da figura 36 mas, em focalização média. Helly. 3 000:1.

Figura 38 — Fim do leptóteno de um espermiogônio primário; fragmentação do corpo de oito valores (focalização alta). Gilson. 3 000:1.

Figura 39 — A mesma célula da figura 38, mas, em focalização média. Gilson. 3 000:1.

Figura 40 — Fios e anéis do fim do leptóteno de um cisto-2^2. Helly. 4 400:1.

Figura 41 — Diplóteno de um espermiogônio primário (corte equatorial). Gilson. 3 000:1.

Figuras 42 e 43 — Fios do diplóteno, pouco esquematizados, de um cisto-2^4 (focalização alta). Helly. 3 000:1.

Figura 44 — Espermiogônio primário no paquíteno (focalização baixa). As letras indicam as partes correspondentes nas figuras 45 e 46. Helly. 3 000:1.

Figura 45 — A mesma célula como a da figura 44, mas, em focalização média. As letras indicam as partes correspondentes nas figuras 44 e 46. Helly. 3 000:1.

Figura 46 — A mesma célula como a da figura 44, mas em focalização alta. As letras indicam as partes correspondentes nas figuras 44 e 45. Helly. 3 000:1.

Figura 47 — Cromosomas, em condensação, da prófase, de um espermiogônio primário. Gilson. 3 000:1.

ESTAMPA 9

Figura 48 — 22 cromosomas dirigindo-se para a placa equatorial. Em preto: cromosomas em posição alta; pontilhado: em posição média; em branco: posição baixa. Flemming. 3 000:1.

Figura 49 — Placa equatorial de uma roseta-2^4, um pouco inclinada, de modo que os cromosomas são vistos um pouco de lado. Flemming. 3 000:1.

Figura 50 — Placa equatorial de um espermiogônio primário. Helly. 3 000:1.

Figura 51 — Início da anáfase de um cisto-2^4. Helly. 3 000:1.

Figura 52 — Fim da anáfase de um cisto-2^4. Helly. 3 000:1.

Figura 53 — Início da telófase de um cisto-2^4. Helly. 3 000:1.

Figura 54 — Fim da telófase de um cisto-2^4. Helly. 3 000:1.

Figura 55 — Formação de novas células piriformes no fim da telófase de um cisto-2^5. Helly. 3 000:1.

Figura 56 — Esquema da formação dos cromosomas no espermiogônio.

Figura 57 — Espermiócito. Estádio a. Retículo grosseiro. Focalização alta. Helly. 3 000:1.

Figura 58 — Espermiócito. Estádio a. Retículo grosesiro. Focalização média. Helly. 3 000:1.

Figura 59 — Espermiócito. Estádio b. Corpos cromáticos compactos. Focalização alta. Helly. 3 000:1.

Figura 60 — Espermiócito. Estádio b. Corpos cromáticos compactos. Focalização baixa. Helly. 3 000:1.

Figura 61 — Espermiócito. Estádio c. Início do leptóteno. Focalização alta. Flemming. 3 000:1.

Figura 62 — Espermiócito. Estádio c. Início do leptóteno. Focalização média. Flemming. 3 000:1.

Figuras 63 e 64 — Espermiócito. Estádio d. Fim do leptóteno. Flemming. 3 000:1.

Figura 65 — Espermiócito. Estádio e. Início da *sinapsis*. Flemming. 3 000:1.

Figura 66 — Espermiócito. Novêlo sináptico. Flemming. 3 000:1.

Figura 67 — Espermiócito. Estádio f. Fios duplos. Focalização média. Flemming. 3 000:1.

ESTAMPA 10

Figuras 68 e 69 — Espermiócito. Estádio f. Fios duplos. Focalização baixa. Flemming. 3 000:1.

Figura 70 — Detalhe da figura 69.

Figura 71 — Espermiócito. Fim do estádio f. a) fio isolado. 4 400:1; b) núcleo inteiro com o corpo de 5 valores, ocasionalmente bipartido. 3 000:1; c) outras formas do corpo de 5 valores. 3 000:1. Flemming.

Figura 72 — Espermiócito. Estádio dos cromosomas difusos. Flemming. 3 000:1.

Figura 73 — Espermiócitos. Fim do estádio dos cromosomas difusos. Gilson. 3 000:1.

Figura 74 — Espermiócito. Forma de transição para a diacínese. Gilson. 3 000:1.

Figura 75 — Espermiócito. Corpo de 5 valores e formação das grandes tétrades e dos heterocromosomas. Bouin II — Toluidin. 3 300:1.

Figura 76: — Espermiócito. Diacínese. Gilson. 3 000:1.

Figura 77 — Espermiócito. Diacínese. Início da fragmentação do corpo de 5 valores. Flemming. 3 000:1.

Figura 78 — Como na figura 77, mas com fixação segundo Helly.

Figura 79 — Espermiócito. Tétrades vistas lateralmente. Gilson. 3 000:1.

Figura 80 — Espermiócito. Formação das grandes tétrades. Helly. 4 400:1.

Figura 81 — spermiócito. Formação das pequenas tétrades. Helly. 4 400:1.

ESTAMPA 11

Figura 82 — Espermiócito. Esquema de formação das tétrades.

Figura 83 — Espermióctio. Diacínese. Fragmentação do corpo de 5 valores. Gilson. 3 000:1.

Figura 84 — Espermiócito. a) Início da anáfase; b) depois de uma diferenciação intensa. Bouin II. 3 000:1.

Figuras 85 a 87 — Espermiócito. Metáfase. Placa equatorial. Flemming, sem ácido acético. 3 000:1.

Figura 88 — Espermiócito. Início da anáfase. Duas grandes tétrades (B e C) e os heterocromosomas X e Y, êstes em divisão. Helly. 4 400:1.

Figura 89 — Espermiócito. Duas pequenas tétrades e heterocromosoma X, êste bipartido. Helly. 4 400:1.

ESTAMPA 12

Figura 90 — Espermiócito. Seqüência dos cromosomas haplóides. Helly. 3 300:1.

Figura 91 — Espermiócito. Alguns dos autosomas da placa equatorial, depois de uma diferenciação intensa. Helly. 3 000:1.

Figura 92 — Espermiócito. Anáfase. Início da divisão de 4 autosomas e um heterocromosoma. Gilson. 4 400:1.

Figura 93 — Espermiócito. a) telófase e divisão da célula, formando dois perspermídeos; b) e c) duas placas de cromatina, vista de cima. Helly. 2 200:1.

Figura 94 — Espermiócito. Metáfase. Polo do fuso visto de cima. Flemming sem ácido acético. 3 000:1.

Figura 95 — Prespermídeo. Estádio de torsão, visto do lado. Gilson. 3 000:1.

Figura 96 — Prespermídeo. Estádio de torção, visto de cima. Gilson. 3 000:1.

Figura 97 — Prespermídeo. 6 díades da metáfase. Helly. 3 000:1.

Figura 98 — Placas equatoriais: a) da primeira; b) da segunda divisão de maturação. Helly. 3 000:1.

ESTAMPA 13

Figura 99 — Como a figura 98.

Figura 100 — Prespermídeo. Metáfase. Díades, grande e pequena, e os dois heterocromosomas. Bouin II. 4 400:1.

Figura 101 — Prespermídeo. Anáfase. Bouin II. 4 400:1.

Figura 102 — Prespermídeo. a) anáfase; b) uma placa de cromatina, em anáfase, vista de cima. Bouin II. 4 400:1.

Figura 103 — Prespermídeo. a) telófase e divisão da célula em dois espermídeos; b) e c) duas placas de cromatina, em telófase. Gilson. 3 000:1.

Figuras 104 a 106 — Espermídeo. Estádio inicial. Helly. 3 000:1.

Figuras 107 e 108 — Espermídeo. Estádio mais adiantado. Gilson. 4 400:1.

ESTAMPA 14

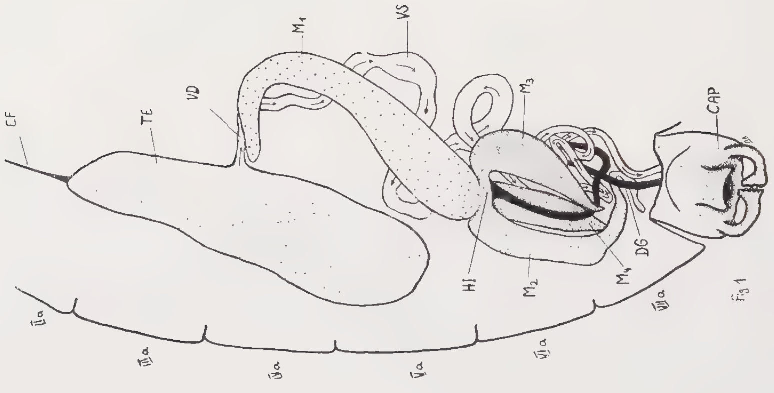
Figura 109 — Espermiócito. Aparelho de Golgi e mitocôndrios. Na metade à direita, os mitocôndrios e o protoplasma não foram desenhados. Flemming sem ácido acético. 2 200:1.

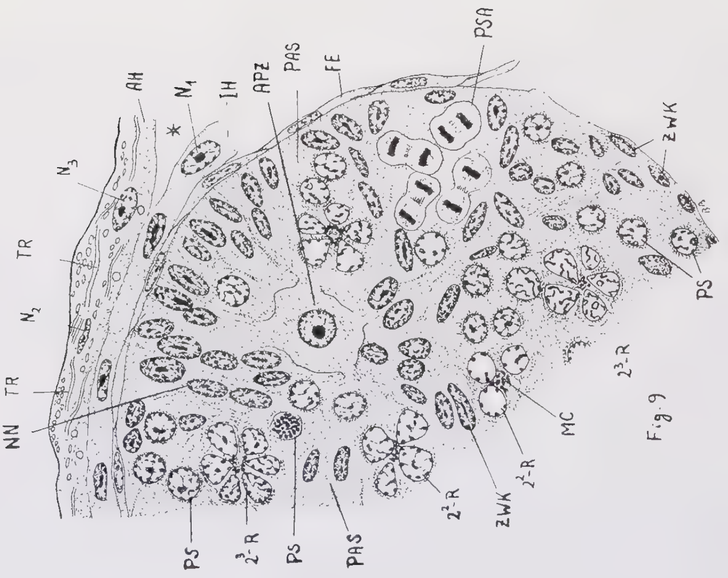
Figura 110 — Espermiócito. Retículo do aparelho de Golgi que se encontrava sôbre a superfície do núcleo (na fig. 109). Flemming sem ácido acético. 2 200:1.

Figura 111 — Espermiócito. Aspecto lateral da metáfase, aparelho de Golgi e mitocôndrios presentes. Flemming sem ácido acético. 2 200:1.

Figura 112 — Espermiócito. Anáfase; aparelho de Golgi e mitocôndrios. Flemming sem ácido acético. 2 200:1.

Figura 113 — Espermiócito. Telófase; aparelho de Golgi e mitocôndrios. Flemming sem ácido acético. 2 200:1.


CF
TE
VD
M1
VS
M3
CAP
HI
M2
M4
DG
IIa
IIIa
IVa
Va
VIa
VIIa
VIIIa
Fig 1


AH
N1
*
IH
APZ
PAS
FE
PSA
ZWK
PS
N3
TR
N2
TR
NN
2³-R
MC
2²-R
ZWK
2¹-R
PAS
PS
2³₂-R
PS
Fig. 9

Figs. 1 e 9

ESTAMPA 2

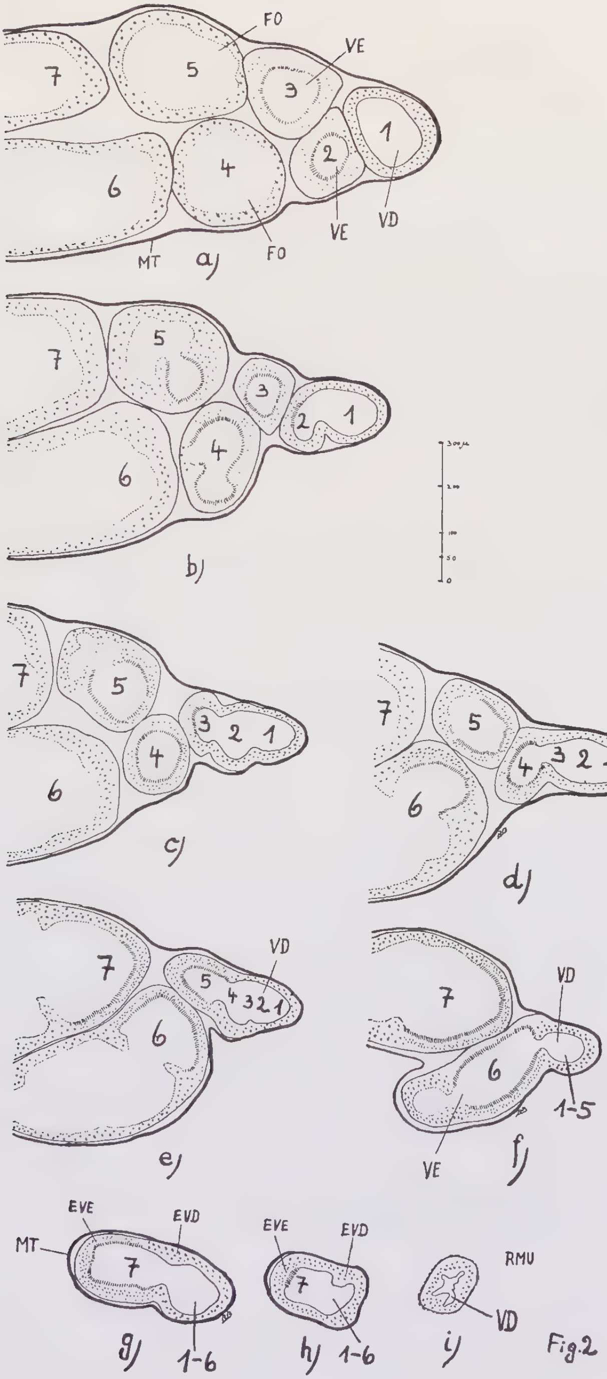
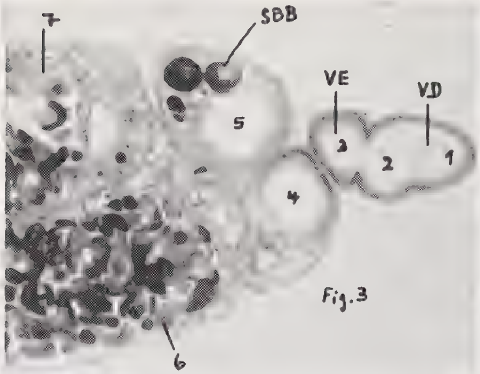
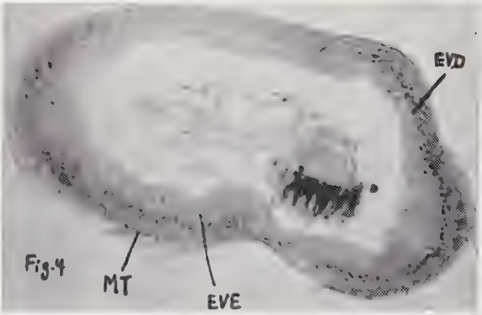
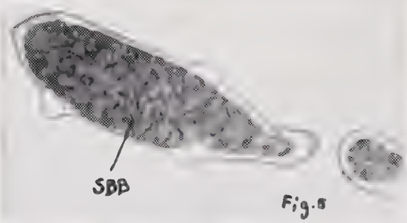


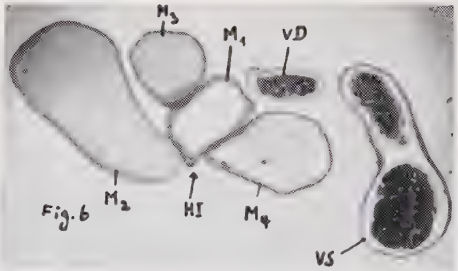
Fig. 2 a-i

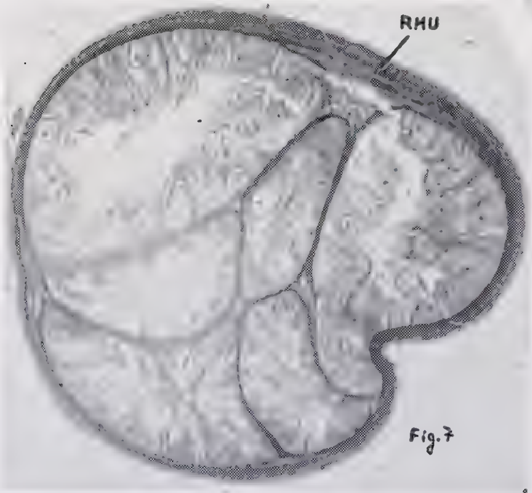
ESTAMPA 3

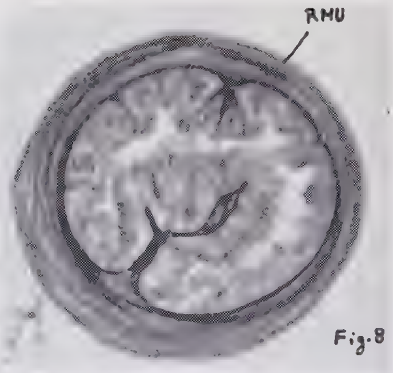












Figs. 3-8

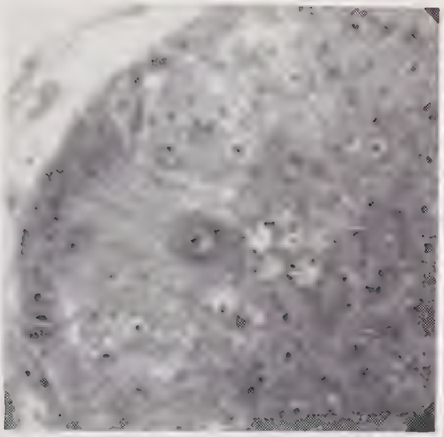


Fig.10

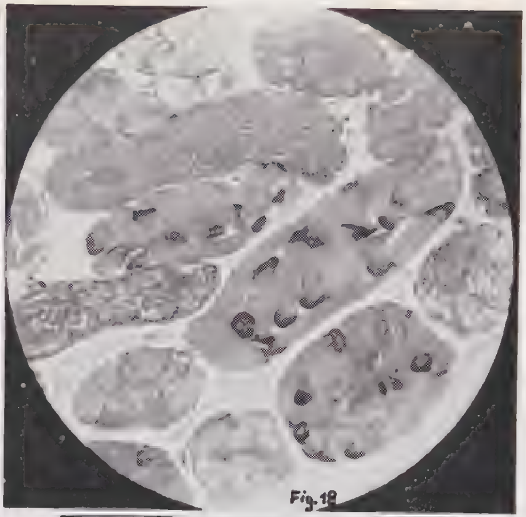


Fig.18

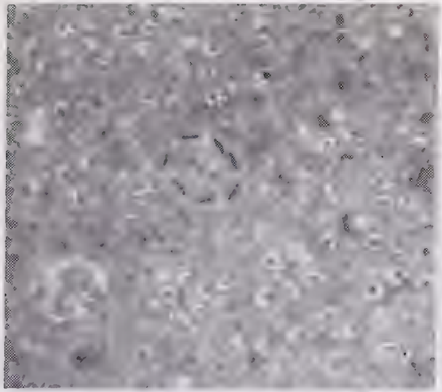


Fig.19b

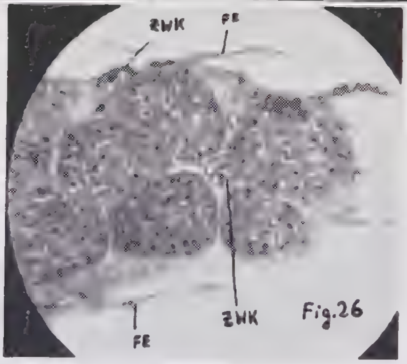


Fig.26

Figs. 10, 18, 19 b e 26

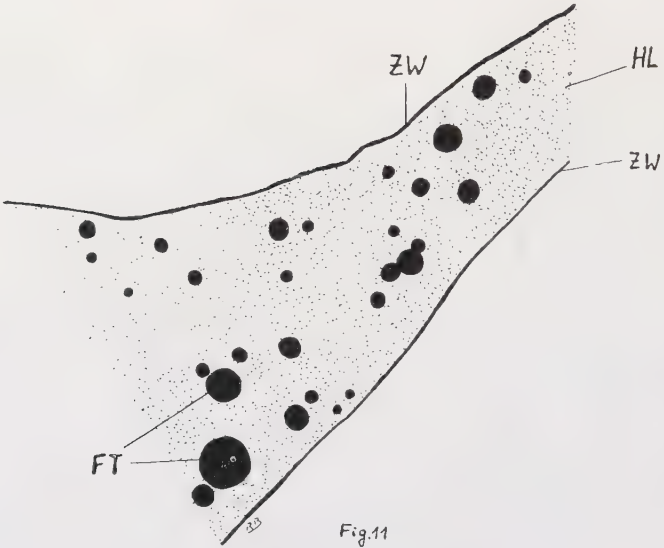


Fig.11

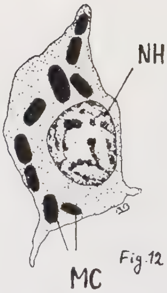


Fig.12

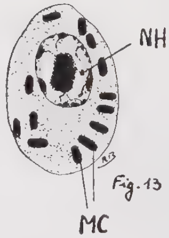


Fig.13

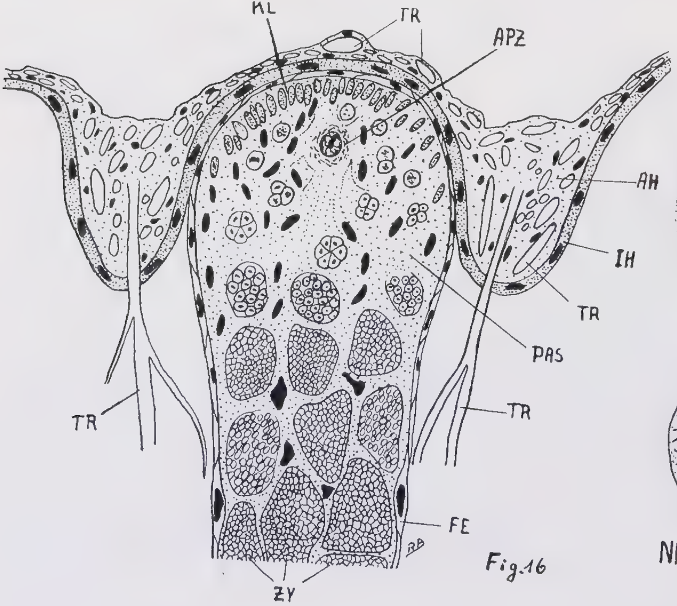


Fig.16

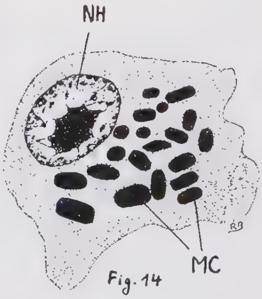


Fig.14

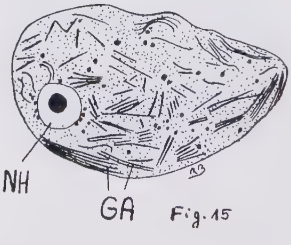


Fig.15

Figs. 11-16

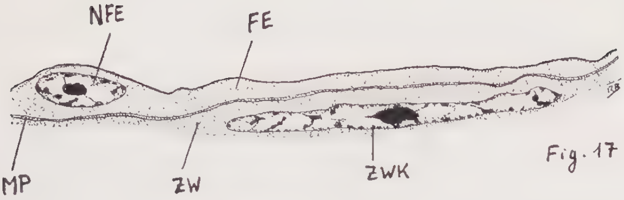


Fig. 17

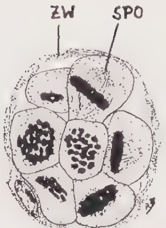


Fig. 21

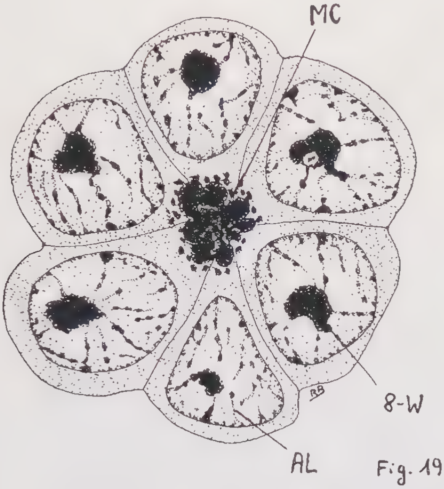


Fig. 19 a

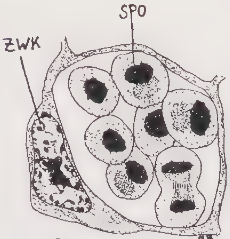


Fig. 22

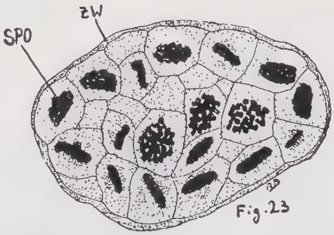


Fig. 23

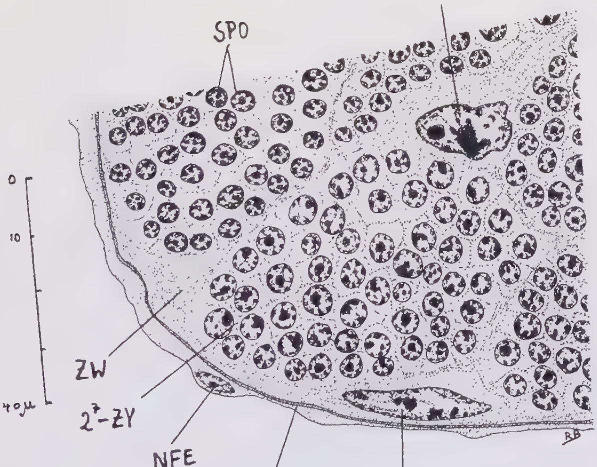


Fig. 20

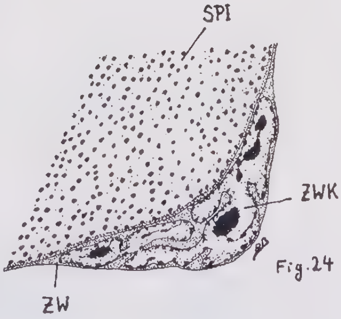


Fig. 24

Figs. 17, 19 a, 20-24

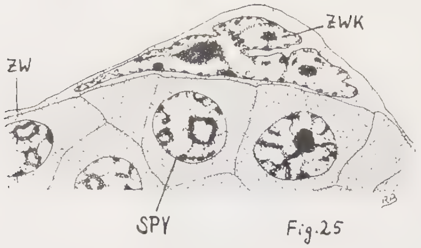


Fig.25

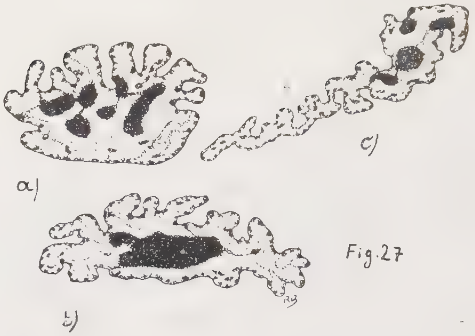


Fig.27

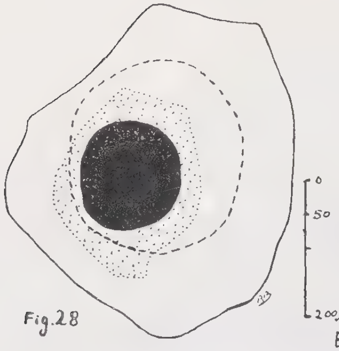


Fig.28

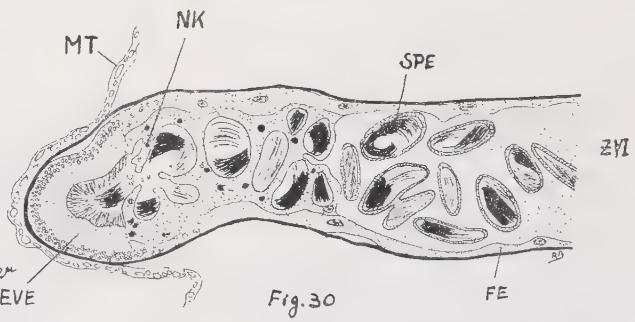


Fig.30

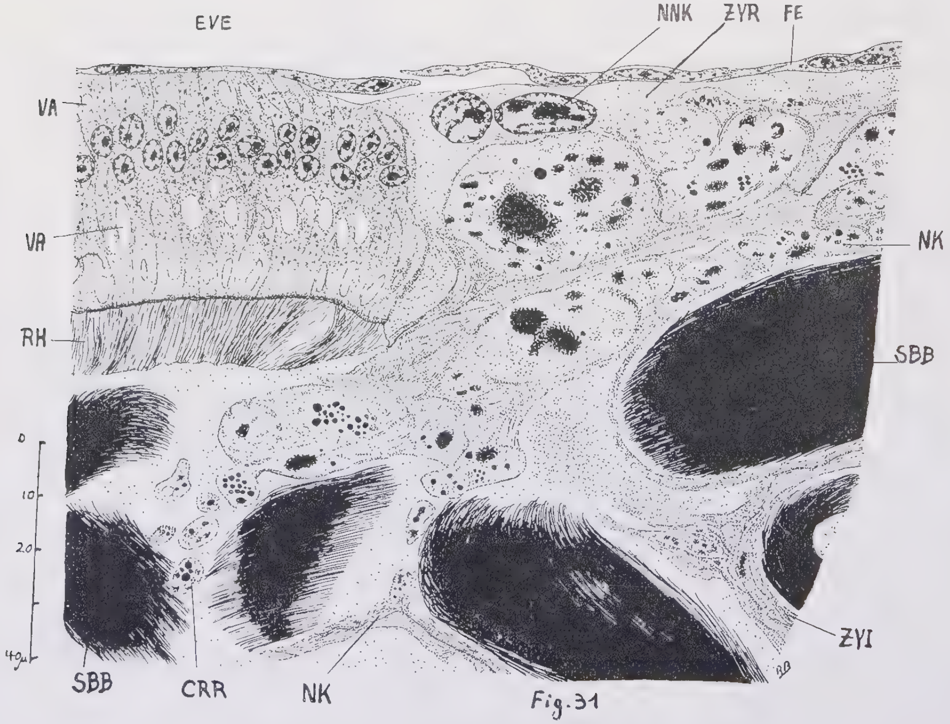


Fig.31

Figs. 25, 27, 28, 30 e 31

ESTAMPA 8

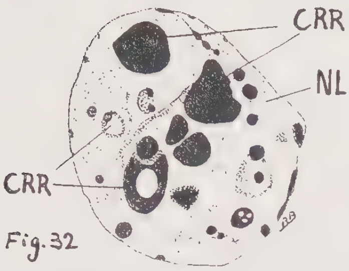


Fig. 32

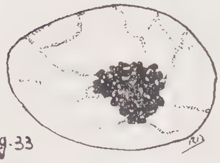


Fig. 33

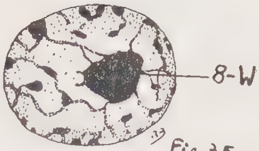


Fig. 35

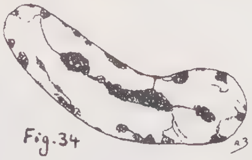


Fig. 34

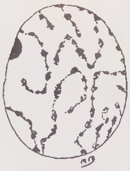


Fig. 36

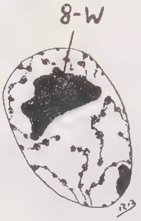


Fig. 37

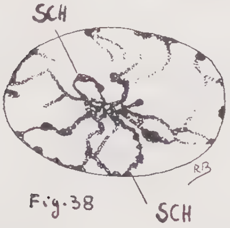


Fig. 38

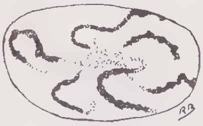


Fig. 39

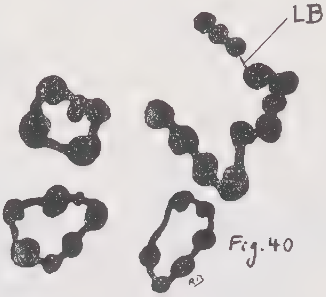


Fig. 40

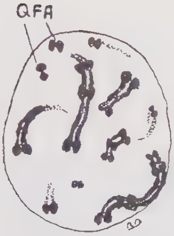


Fig. 41

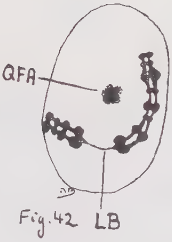


Fig. 42

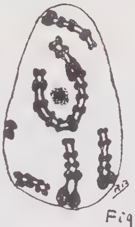


Fig. 43

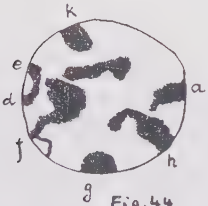


Fig. 44

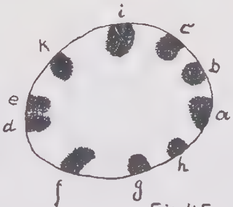


Fig. 45

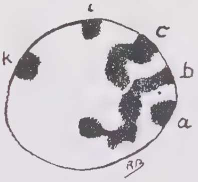


Fig. 46

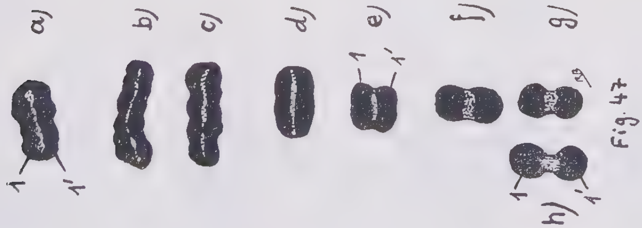


Fig. 47

Figs. 32-47

ESTAMPA 9

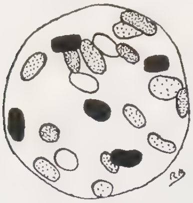


Fig.48

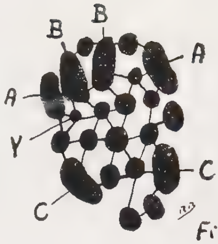


Fig.49

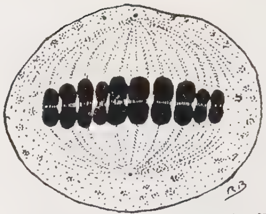


Fig.50

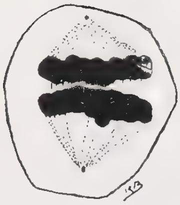


Fig.51

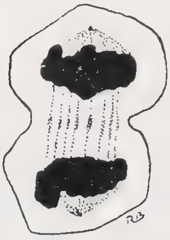


Fig.52

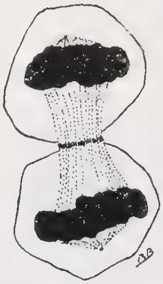


Fig.53

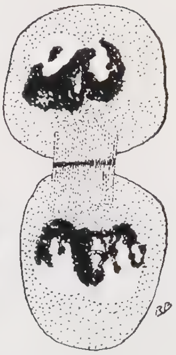


Fig.54

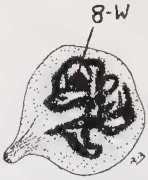


Fig.55

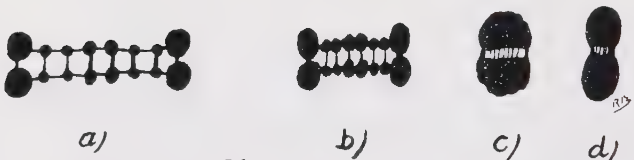


Fig.56

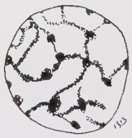


Fig.57

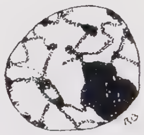


Fig.58

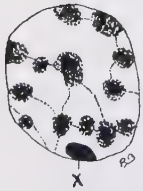


Fig.59

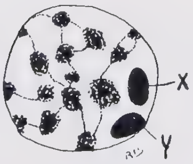


Fig.60

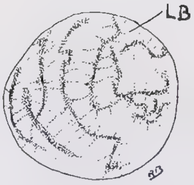


Fig.61

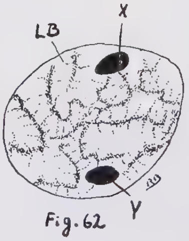


Fig.62

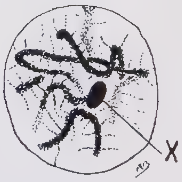


Fig.63

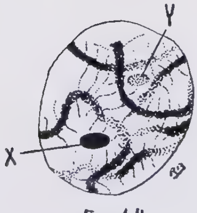


Fig.64

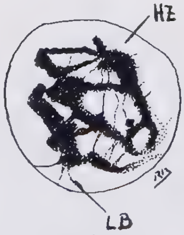


Fig.65

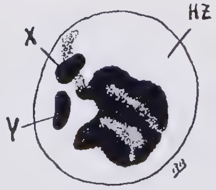


Fig.66

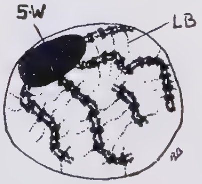


Fig.67

Figs. 48-67

ESTAMPA 10

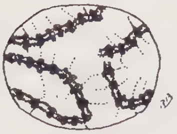


Fig. 68

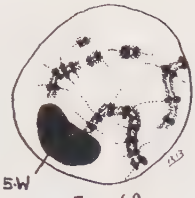


Fig. 69

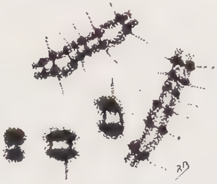


Fig. 70

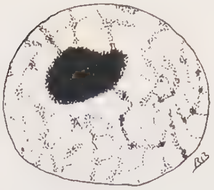


Fig. 72

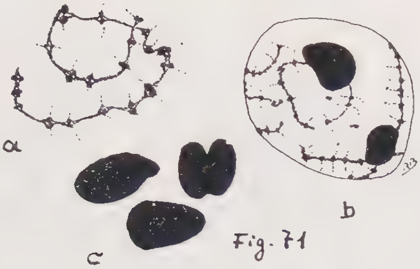


Fig. 71

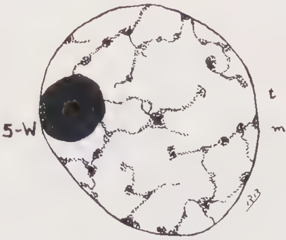


Fig. 73

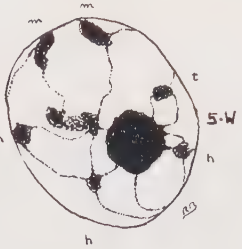


Fig. 74

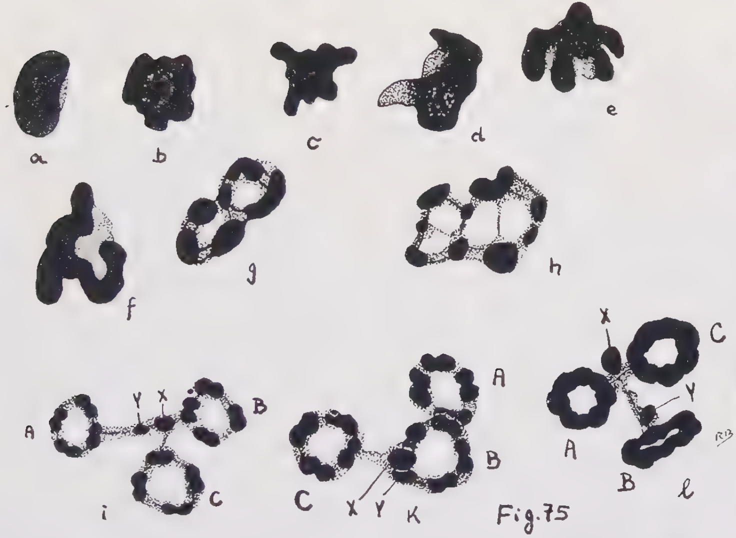


Fig. 75

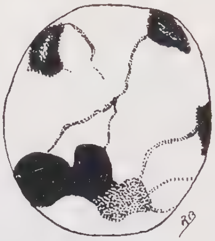


Fig. 76

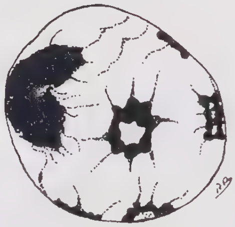


Fig. 77

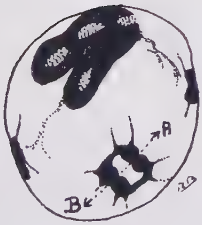


Fig. 78

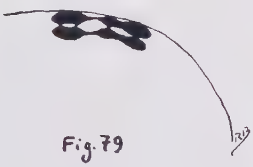


Fig. 79

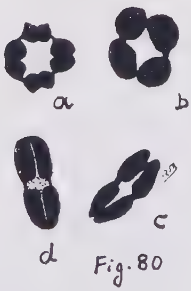


Fig. 80

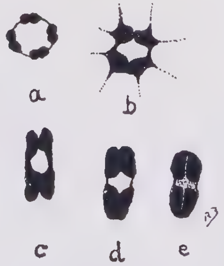


Fig. 81

Figs. 68-81

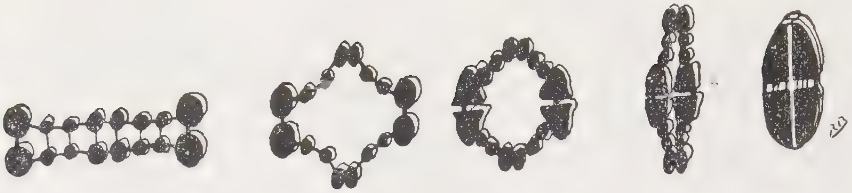


Fig. 82

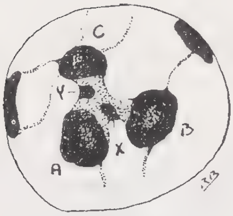


Fig. 83

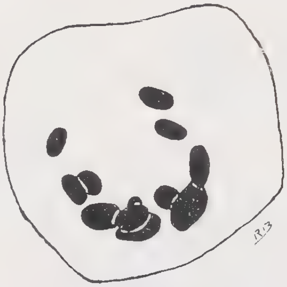


Fig. 84 a

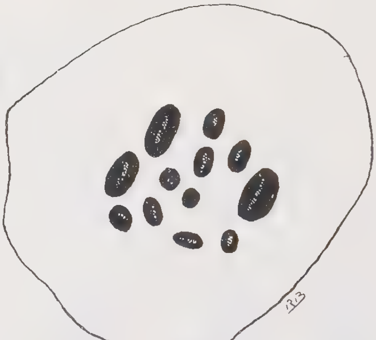


Fig. 84 b

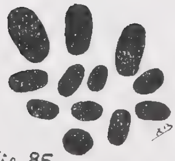


Fig. 85

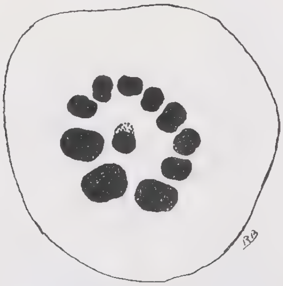


Fig. 86

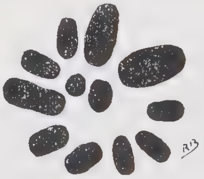


Fig. 87

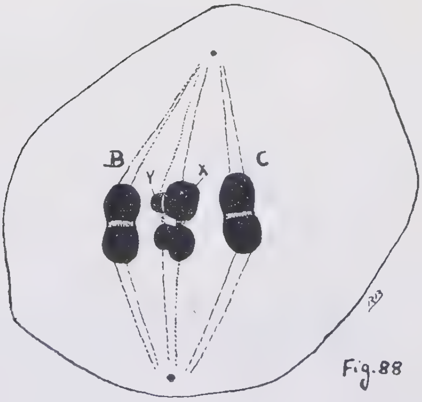


Fig. 88

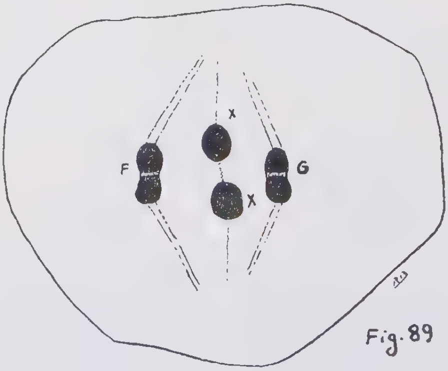


Fig. 89

Figs. 82-89

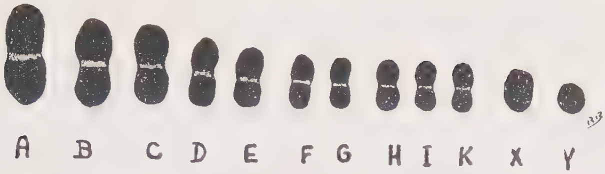


Fig. 90

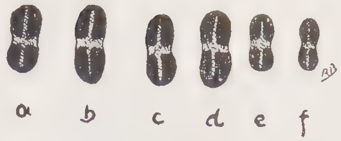


Fig. 91

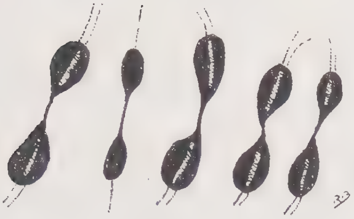


Fig. 92

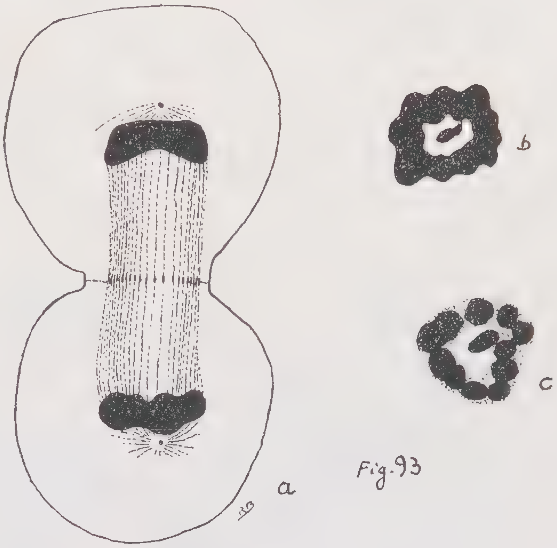


Fig. 93

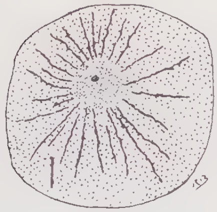


Fig. 94

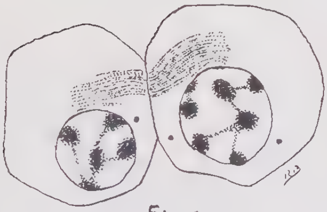


Fig. 95

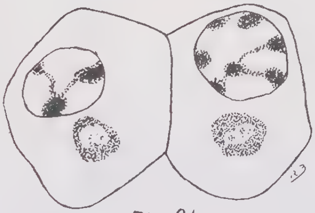


Fig. 96

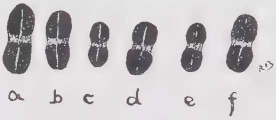


Fig. 97

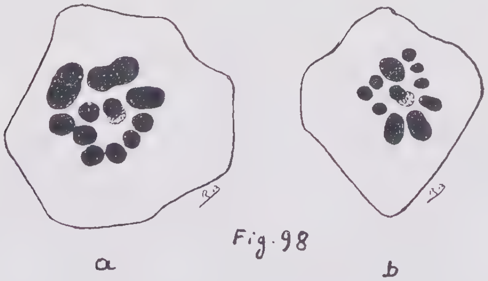


Fig. 98

Figs. 90-98

ESTAMPA 13

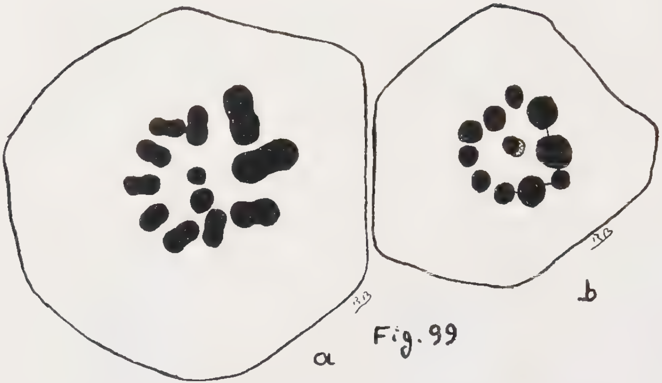


Fig. 99

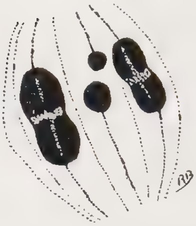


Fig. 100

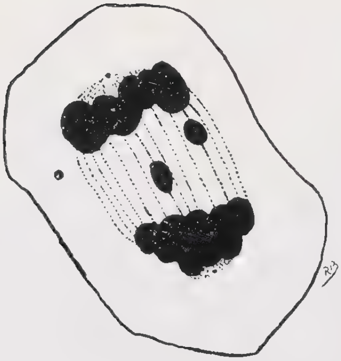


Fig. 101

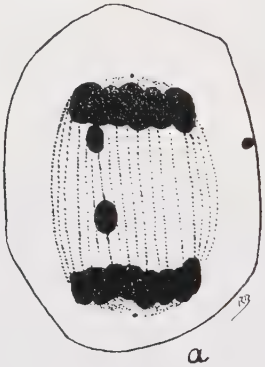


Fig. 102 a

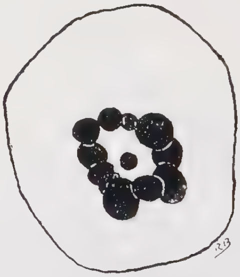


Fig. 102 b

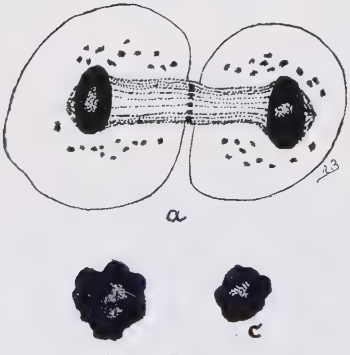


Fig. 103

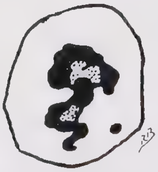


Fig. 104

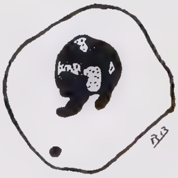


Fig. 105

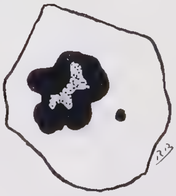


Fig. 106

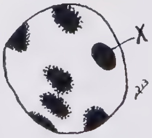


Fig. 107

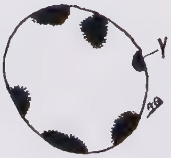


Fig. 108

Figs. 99-108

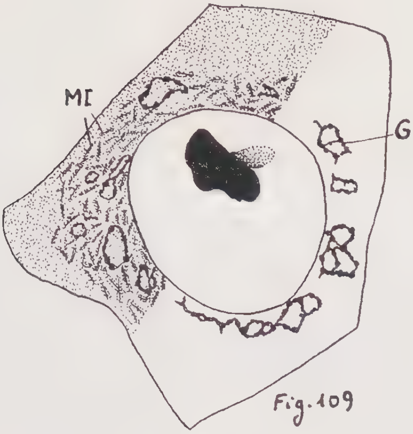


Fig. 109

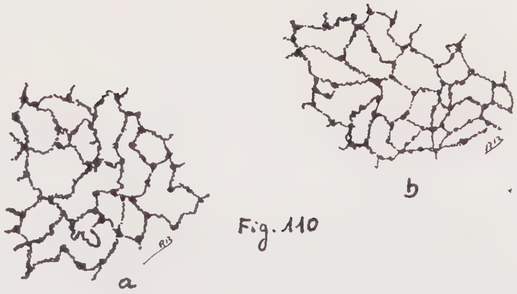


Fig. 110

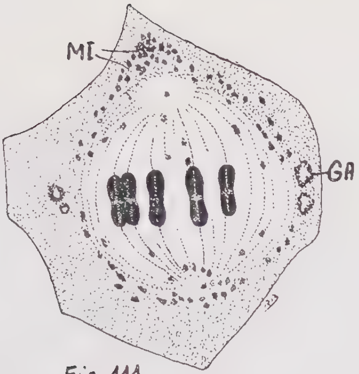


Fig. 111

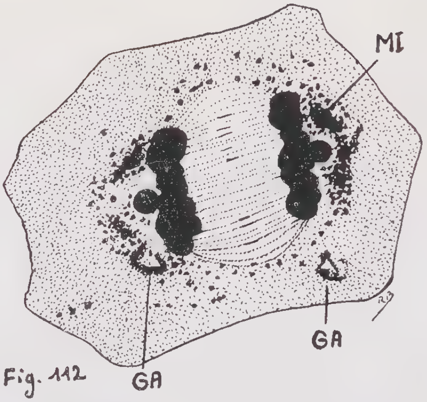


Fig. 112

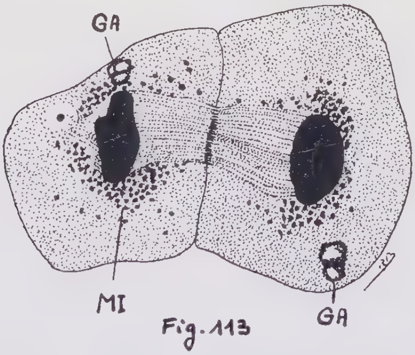


Fig. 113

Figs. 109-113

Uebersetzung. Anatomische und histologische Studien ueber die Unterfamilie Triatominae (Heteroptera, Reduviidae)

V Teil: Bau des Hodens und die Spermiocytogenese von Triatoma infestans

Rudolf Barth
Instituto Oswaldo Cruz

(mit 113 Figuren)

1. Einleitung.
2. Allgemeiner Aufbau des Reproduktionsapparates.
3. Feinerer Bau des Hodens.
4. Spermiocytogenese:
    a) Spermiogonien
    b) Spermiocyten
    c) Praespermiden
5. Zusammenfassung.
6. Bibliographie.
7. Abkuerzungen in den Figuren.
8. Erklärung der Figuren.

1. EINLEITUNG.

Beim Studium der Spermiogenese der Triatominen ergab sich der voellige Mangel an Literaturangaben ueber den feineren Bau der inneren maennlichen Geschlechtsorgane dieser medizinisch wichtigen Unterfamilie der Reduviiden. Ebenfalls fehlt eine konsequente Bearbeitung der Spermiogenese und eine Zusammenfassung der bisher bekannten Tatsachen ueber die Entwicklung der Spermien, worauf Schreiber und Pellegrino (1948) bereits hinweisen. Beide Autoren behandeln in der angefuehrten Arbeit, sowie in einer weiteren Darlegung (1950) u.a. die Heteropycnose in den maenlichen Reproduktionszellen verschiedener Triatominen. Sie kommen zu dem Ergebnis, dass *Triatoma infestans* und *platensis* drei Paare von sehr deutlich heteropycnotischen Chromosomen besitzen, die sich von den uebrigen Autosomen scharf unterscheiden. Dagegen sind diese Charakteristica in anderen Arten derselben Unterfamilie weniger deutlich. Fuer die vorliegende Untersuchung ergab sich, dass das allozyclische Verhalten dreier Autosome bei *Triatoma infestans* von besonderem Vorteil war. Weiterhin geht aus der vorhandenen mir zugaenglichen Literatur hervor, dass eine eingehende Bearbeitung der inneren maennlichen Geschlechts-organe bei Triatominen auch in anatomischer Hinsicht fehlt. Da beim Vergleich der Literaturangaben mit dem bearbeiteten Material sich zeigt, dass Verallgemeinerungen von Befunden an einer Art fuer die entsprechende Gattung oder Familie unmoeglich sind und fast immer zu Trugschluessen fuehren, ergab sich die Notwenigkeit einer eingehenden Bearbeitung sowohl des anatomischen und histologischen Aufbaus dieser Organe, wie auch der Spermiogenese. Da zur Zeit, aus technischen Gruenden, *Triatoma infestans* in aureichender Menge zur Verfuegung stand, wurde diese Art gewaehlt, um eine Grundlage zu schaffen, auf der basierend die anderen Arten der Unterfamilie (soweit sie von medizinischem Interesse sind) verglichen, bzw. ergaenzend beschrieben werden koennen. Vor der Schilderung der Ergebnisse dieser Studien ist eine Klarstellung der Terminologie notwendig:

Ich benuetze im folgenden, nach dem Vorgange DEPDOLLAS (1928), die VON LENHOSSEK'SCHE Terminologie (1906) in Bezug auf die Spermiogenese: Statt Spermatogonien schreibe ich nur Spermiogonien, statt Spermatocyten I. Ordnung nur Spermiocyten, statt Spermatocyten II. Ordnung nur Praespermiden, statt Spermatiden und statt Spermatozoen nur Spermiden und Spermien. Dadurch ergibt sich statt Spermatogenese hier Spermiogenese, statt Spermatocytogenese und Spermatohistogenese hier Spermiocytogenese und Spermiohistogenese. Die im Spitzenteil jedes Hodenfollikels gelegene Einzelle, die haeufig Versonsche Zelle gennant wird, aber — wie CHOLODKOWSKY schon 1905 nachweist — richtiger Spichardtsche Zelle heissen muesste, da SPICHARDT sie bereits 1886 beschreibt, wird nach dem Vorgange GRUENBERGS (1903) hier Apikalzelle gennant. Da das *vas deferens* beim Verlassen der Peripherie des Hodens keine Aufknaeuelung bildet, sondern in nur wenig gewundenem Verfauf sich nach hinten wendet, kann von einem Nebenhoden, *Epididymis,* nicht gesprochen werden. Da alle Spermiogonien einer Cyste von einem Urspermiogonium abstammen (s.u.), werden die Cysten nach ihrer Anzahl von Spermiogonien benannt: eine 2^5 Cyste ist eine solche mit $2^5 = 32$ Spermiogonien.

Technik.

Da die Spermiogenese bei den Heteropteren auch im erwachsenen Zustand des Tieres weiter laeuft und nicht in der Larvenperiode bereits (wie z. B. bei den Lepidopteren) beendet ist, wurden ausschliesslich Imagines verwendet. Die angewandte Technik entspricht der allgemein ueblichen in Histologie und Mikroanatomie. Je nach Zweck der Untersuchung wurden die Fixierungsfluessigkeiten ausgewaehlt: Fuer mikroanatomische Untersuchungen Bouin-Duboscq-Brasil, Carnoy mit Sublimatzusatz (nach Weber: zu je 100 cm^3 verwendeten absoluten Alkohols 1 g Sublimat) und Gilson, Da Fano und Helly. Fuer Spindelfasern und die feineren Strukturen des Aufbaus des Schwanzstueckes waehrend der Spermiohistogenese erwies sich Fixierung nach Flemming ohne Essigsaeure als vorteilhaft (0,5 g O_sO_4 geloest in 118,7 cm^3 Chromsaeure zu 1% in doppelt destilliertem Wasser, im Eisschrank unbegrenzt haltbar, wenn gut verschlossen und ohne Verunreinigung). Diese Fixierung eignet sich ebenfalls fuer Mitochondrien. Es scheint, dass die Verwendung von Essigsaeure fuer cyto logische Untersuchungen, bei denen es auf die moeglichst genaue Einhaltung der natuerlichen Lage und Groesse der Kernteile und Protoplasmabildungen ankommt, besser vermieden wird, da durch die quellende Einwirkung der Saeure starkeVeraenderungen eintreten. Bei Quetschpraeparaten und Austrichen braucht diese Vorsicht nicht beachtet zu werden, da hier bereits mechanische Beeinflussungen vorliegen. Letztere Methoden wurden in dieser Arbeit nur vereinzelt zur allgemeinen Orientierung angewendet. Ebenfalls wurde das in der Genetik so beliebte einfache Carmin-Essigsaeure-Verfahren wegen der Gefahr von Artefakten nicht benuetzt. Gute Praeparate von ganzen Hodenfolikeln (“Totalpraeparate) zur Abgrenzung der verschiedenen Bildungszonen erhielt ich nach Fixierung in Carnoy (ohne Sublimat, 20 Min.) und nachfolgender Faerbung mit Delafields Haematoxylin (progressiv) oder mit Kernechtrot oder mit Gallocyanin. Als Schnittfaerbung ergab Heidenhains Eisenhaematoxylin immer die besten Ergebnisse; andere Faerbungen (Haematoxyline, Kernechtrot und andere syntetische Teerfarben) dienten lediglich zur Kontrolle.

2. ALLGEMEINER AUFBAU DES REPRODUKTIONSAPPARATES

Um den Aufbau des Hodens von *Triatoma infestans* klaeren zu koennen, muessen wir auf Befunde embryologischer Arbeiten zurueckgreifen. Eine spezielle Untersuchung ueber die Embryogenese der Triatominen liegt nicht vor, ebenfalls wurden die Reduviiden noch nicht embryologisch ausreichend untersucht. Es ist anzunehmen, dass die Grundzuege der Embryonalentwicklung, insbesondere die Entwicklung der Urgeschletszellen und die Herausdifferenzierung der Gonaden bei den Heteropteren in aehnlichen Bahnen verlaufen wie dieses fuer andere Insektenordnungen bekannt geworden ist. Hier sind als Autoren insbesondere zu nennen: Heymons (1897, 1899), Cholodkowsky (1888, 1889), Boveri (1892), Wheller (1890, 1893), Graber (1891), Tannreuther (1907), Hirschler (1928) (ausfuehrliche Literatur, besonders aeltere, findet sich in Schroeder, 1928, Bd. I, S. 819-824). Ohne Verallgemeinerungen vornehmen zu wohllen, lassen sich aus den zahlreichen Arbeiten ueber die Entwicklung der Gonaden eine Anzahl von Befunde entnehmen, die sich, immer wieder in den verschiedensten Insektengruppen auftretend einem einheitlichen, uebergeordneten Entwicklungsplan einfluegen: bevor Ecto- und Endoderm sich dorsalwaerts ueber dem Eidotter, von beiden Seiten emporwachsend, geschlossen haben, sind die Urgeschlechtszellen, die bereits in den ersten Furchungsteilungen vom somatischen Material getrennt wurden, nach vorne gewandert und an die Geschlechtsleisten herangetreten. Diese letzteren stammen vom Mesoderm ab und liegen als duenne Zellstraenge an der Splanchnopleura, in das Mixocoel des Embryos neben den Cardioblasten hineinreichend. Wenn die Embryionalanlage nun mit ihren Seitesraendern den Nahrungsdotter umwaechst, werden die beiden Geschlechtsleisten ebenfalls mit nach oben verlagert. Waehrend aber die Cardioblasten sich in der Dorsallinie treffen und zum Dorsalgefaess vereinigen, bleiben die Geschlechtsleisten durch dieses getrennt, liegen aber in absolut dorsaler Lage. Die Urgeschlechtszellen dringen nun frueher oder spaeter in den ventralen Teil der Geschlechtsleiste ein, deren Zellen dillatierend, so dass sie zuletzt eine geschlossene Masse bilden, die von einer Epithelschicht umgeben wird, die aus den Zellen der Geschlechtsleiste hervorgegangen ist. Dazu schreibt J. Hirschler (Schroeder, Bd. I, S. 806) dessen klare Darlegungen hier resumierend wieder gegeben werden: "Der keulenfoermig erweiterte Abschnitt der Geschlechtsleiste ist somit als die junge Gonade zu betrachten, die aus zwei Zellarten zusammengesetzt ist: aus den central gelegenen Geschlechtszelen und aus der aeusseren mesodermalen Bekleidung, die uns das Epithel der Geschlechtsdruese darstellt." Der Ort des Eindringens der Urgeschlechtszellen in die Geschlechtsleiste aendert sich bei den untersuchten Ordnungen. Z. B. fand Heymons bei *Forficula,* dass die Urgeschlechtszellen in die Somiten des 9. und 8. Abdominalsegments einwandern und hier die Gonaden bilden. Bei *Gryllus* haeufen sich die Urgeschlechtszellen um 2. und 3. Abdominalsegment, bei *Periplaneta* dagegen im 2. — 7. Segment an. Wie es bei *Triatoma infestans* sich verhaelt, muss durch eine embryologische Untersuchung geklaert werden. Der vor der Gonade gelegene Abschnitt des dorsalen Teil der Geschlechtsleiste, der sich durch den Thorax hindurch bis zum Hals fortsetzt, wird zum Aufhaengeband der Gonade (Enfadenplatte nach Heymons) (Taf. I, Fig. 1 EF). Das Band inseriert mit seinem Ende beim erwachsenen Tier von *Triatoma* am dorsalen Rand des Eintrittslochs des Prothorax. Der dorsale Teil der Leiste der Segmente, in denen sich die die Gonaden bildeten, wandeln sich zum *vas deferens* (bzw. Oviduct) um und nehmen als solche Verbindung mit den entsprechenden Teilen in denjenigen Koerperabschnitten auf, die den die Gonaden tragenden Segmenten folgen, so dass die Ausfuehrgaenge nach hinten verlaengert werden. Diese treten an ihren Enden spaeter mit einer unpaaren ectodermalen Einstuelpung in Verbindung, die — beim hier interessierenden Maennchen — den *ductus ejaculatorius* bildet.

Die Urgeschlechtszellen sammeln sich nun nicht in einer geschlossenen Masse im Inneren der Geschlechtsleite an, sondern treten in Kanaele ein, die sich von der Wand der Geschlechtsleiste aus seitlich in diese einstuelpen. Diese Tuben stellen die Follike dar. Urspruenglich (nach Heymons im Embrio von *Lepisma* sind die Follikel segmental angeordnet. Spaeter verringert sich der Abstand zwischen ihnen, "so dass ihre regelmaessige paarweise Verteilung auf je ein Koerpersegment verwischt wird" (Heymons). Bei den hoeheren Insekten ist die segmentale Anordnung der Hodenfollikel auch im Embryo nicht mehr festzustellen. Ihre Anzahl scheint allgemein fuer die Arten konstant zu sein. Bei

Triatoma infestans finden sich in allen untersuchten Exemplaren 7 Follikel. Die Masse der Follikel schwanken individuell und je nach dem Lebensalter. Ebenso bestehen beachtliche Unterschiede in den Follikeln ein und desselben Hodens.

Bevor auf den Inhalt der Follikel eingegangen wird, muessen wir einen Blick auf die Anatomie des ganzen inneren Genitalapparates werfen, da einige Abweichungen von den Literaturangaben fuer die Heteropteren zu finden sind. Der Hoden liegt in dem stark abgeplatteten Koeper von *Triatoma infestans* im 2. bis 5. Segment fast an den Seitenraendern des Abdomens unterhalb des Diaphragmas im Perivisceralsinus. Er wird in seiner Lage durch Tracheenaeste des 2. bis 5. Segments fixiert. Schon bei der Anatomie faellt die starke Verzweigung dieser Aeste auf der Gonade auf, was auf einen sehr aktiven Stoffwechsel in diesem Organ hinweist. Die Tracheenaeste liegen auf einer Membran (Hodenkapsel), die alle 7 Hodenschlaeuche gemeinsam umhuellt und auch denjenigen Teil des *vas deferens* einschliesst, der die 7 sehr kurzen *vasa efferentia* aufnimmt (Taf. II, Fig. 2 VE). Das erstere (*vas deferens*) beginnt als Fortsetzung des ersten *vas eferens* (VE_1), das zu dem am meisten proximal gelegenen Follikel gehoert. Es zieht sich, gerade verlaufend, auf der dem Darm zugewandten Innenseite des Hodens entlang und nimmt in regelmaessigen Abstaenden einzeln die restlichen Gefaesse auf. Nachdem es sich mit VE_7 vereinigt hat, verlaesst es die aeussere Huellmembran des Testikels, waehrend die *vasa efferentia* in den Hoden hineinlaufen und in die Follikel muenden, die in unregelmaessigen Windungen eng verschlungen das Innere der Gonade ausfuellen, wobei sie aber jeder fuer sich einen bestimmten Bezirk beanspruchen, der aber in jedem Falle wieder anders gelagert ist.

Der Umriss des Hodens ist unregelmaessig begrenzt; im ganzen gesehen hat er jedoch eine ellipsoide Gestalt, deren Laengsachse der Koerperhauptachse parallel laeuft (Fig. 1). Eine Faerbung der Hodenkapsel, wie sie fuer viele Heteropteren-Arten beschrieben wurde (zumeist von Pflanzensaugern), ist bei dieser Triatominenart nicht vorhanden. Die Testikel sind immer hell, glasig-opak und cremeweiss getoent. Dasselbe gilt fuer die Hoden der verwandten Arten *Triatoma sordida, maculata, vitticeps, Panstrongylus megistus* und *Rhodnius prolixus* und *neglectus* und duerfte wohl allgemein fuer diese Reduviidengruppe zutreffen. Die Groesse des Hodens unterliegt starken individuellen Schwankungen, die vom Lebensalter, Ernaehrung und Kopulation abhaengig ist.

Auf seiner dem Darm zugewandten Seite entspringt etwa aus der Mitte des Hodens das *vas deferens* (Fig. 1 VD). Es laeuft, im ersten Teil wenig gewunden, nach hinten und beginnt schon bald, etwa in der Hoehe des Endes des Hodens, sich in enge Schlingen zu legen und, noch weiter nach hinten, sich zu einem unregelmaessigen lockeren Knaeuel zusammen zu schliessen. Sein Durchmesser ist im Anfang sehr gering (Taf. II, Fig. 2, Taf. III, Fig. 3, 4, VD). Bald aber erweitert es sich bis zu der dichten Aufknaeuelung, in der es wieder seinen urspruenglichen Durchmesser erreicht. Diese Erweiterung stellt die *vesicula seminalis* dar, in der die aus den Hodenfollikeln austretenden Spermienbuendel gesammelt und aufbewahrt werden (Taf. I, Fig. 1, Taf. III, Fig. 5, VS). Dieser Teil ist nicht regelmaessig erweitert, sondern zeigt zahlreiche Knoten, die durch zufaellige Anhaeufungen von Spermienbuendeln zustande kommen. Aus den engen, knaeuelartigen Schlingen, die im 6. und 7. Abdominalsegment liegen, tritt das *vas deferens* als duenner Schlauch heraus, und laeuft in den aus dem 8. und 9. Segment gebildeten Kopulationsapparat hinein (Fig. 1 CAP). Die Richtung des Verlaufs der Schlingen ist in Fig. 1 durch Pfeile angedeutet.

Neben diesem System von spermiogenem und Ausleitungsteil findet sich ein zweites Organsystem, gebildet von den akzessorischen Druesen und ihrem Ausleitungsaparat. Wie die spaeter zu schildernde histologische Untersuchung zeigt, sind diese Druesen und ihr gemeinsamer Ausfuehrgang mesodermalen Ursprungs und werden deshalb nachdem Vorgang Escherichs (1894) als "Mesadenien" bezeichnet. Es finden sich jederseits vier socher Druesen (Fig. 1 MI-IV), die alle einfache Hohldruesen sind (Taf. III, Fig. 6), d.h. jede einzelne besteht aus einem einschichtigen Druesenepithel, das einen grossen Hohlraum umschliesst, in den die Zellen ihre Sekrete entleeren und aus dem ein Ausfuehrkanal hinausfuehrt. Die vier Druesen sind derart gelagert, dass sie alle mit ihre Enden, wo sich die Ausfuehrgaenge befinden, zueinander gewandt liegen und zwischen sich einen Hilus einschliessen, in den die Zellen ihre Sekrete entleeren und aus dem ein Ausfuehrkanal hinausfuehrt. Die vier Druesen sind derart gelagert, dass sie alle mit ihren Enden, wo sich die Ausfuehrgaenge befinden, zueinander gewandt liegen und zwischen sich einen Hilus einschliessen, in dem sich die vier Ausfuehrgaenge zu einem gemeinsamen Kanal vereinen (Taf. III, Fig. 7 und 8). Dieser Hilus liegt gewoehnlich in der Hoehe der Grenze zwischen dem 5. und 6. Segment etwas hinter dem Ende des Testikels (Fig. 1 HI). Von hier aus geht eine Druese (Fig. 1 M_1) nach vorne. Sie ist langgestreckt, anfangs breit, apikalwaerts sich langsam und gleichmaessig verschmaelernd. Sie liegt auf der Visceralseite des Testikels, immer ventral vom *vas deferens,* bzw. der *vesicula seminalis* und legt sich mit ihrer zumeist zum Hoden umgebogenen Spitze eng an den Samenleiter an, mit diesem gleichzeitig bis an die Gonade heranreichend. Sie wird als "vordere Druese" bezeichnet.

Eine zweite Duese (Fig. 1, M_2) entspringt an der Ausssenseite des Hilus und wendet sich nach hinten. Im Beginn ist sie breit, wird aber schon in ihrer Mitte duenn schlauchfoermig. In dieser Form biegt sie nach innen und tritt in das Knaeuel des *vas deferens* ein. Sie wird im folgenden "schlauchfoermige Druese" genannt.

Zur Innenseite des Koerpers gewandt tritt eine dritte Druese (Fig. 1, M_3) aus dem Hilus. Sie biegt ebenfalls nach hinten um und ist nur kurz, etwa halb so lang wie die schlauchfoermige Druese und laeuft zu ihrem Ende hin einfach konisch zu. Es ist die "innere Druese".

Die vierte Druese (Fig. 1, M_4) verlaesst den Hilus auf seiner dorsalen Seite. Sie hat dieselbe Groesse und Form wie die innere Druese und wird als "dorsale Druese" bezeichnet.

Aus dem Hilus tritt rueckwaerts der fuer alle vier Druesen gemeinsame Ausfuehrgang heraus (in Fig. 1 schwarz ausfuellt), der als *ductus glandularis communis* bezeichnet wird. Er verlaeuft zwischen den drei rueckwaertigen Mesadenien nach hinten und tritt dann in das Knaeuel des *vas deferens* ein, bildet hier eine oder zwei Schlingen und laeuft zum Schluss parallel zum *vas deferens*. Innerhalb des Kopulationsapparates muendet er in den *ductus ejaculatorius*.

In der vorliegenden Arbeit wird im ersten Teil der feinere Aufbau des Hodens wiedergegeben und die Spermiocytogenese behandelt, waehrend die Spermiohistogenese und der Aufbau des Ausleitungsapparates fuer den zweiten Teil dieser Arbeit verbleibt.

3. FEINERER BAU DES HODENS.

Die sieben zu einem wirren Knaeuel verschlungenen Follikel des Hodens werden von einer doppelten Zellschicht eingehuellt. Diese immer pigmentlose Huelle wird als Hodenkapsel bezeichnet. Von diesen beiden Schichten, die eng aneinander schliessen, stellt die innere ein syncytiales echtes Epithel dar, das ovale, relativ gleichmaessig verteilt Kerne besitzt (N_1). Bei dieser inneren Huelle (Taf. I, Fig. 9, IM) duerfte es sich um die mesodermalen Zellen der Geschlechtsleiste handeln. Sie wird von GRUENBERG (1903) fuer die Raupe von *Pieris brassicae* angegeben. Eine von dieser Schicht nach innen abgeschiedene Membran ("Huellmembran" GRUENBERGS bei Embryonen von *Bombyx mori*) konnte hier nicht festgestellt werden. Die aeussere Schicht der Hodenkapsel (Taf. I, Fig. 9, AH) hat dagegen eine voellig andere Struktur: Sie ist zusammengesetzt aus einer grossen Anzahl von Tracheen jeden Durchmessers, deren Hypodermis zu einer einzigen Schicht zusammen-geflossen ist. In ihr liegen unregelmaessig verstreut die typischen. Tracheen-Hypodermiskerne (N_2). Diese Schicht scheint aber sekundaer durch Lymphozyten verstaerkt worden zu sein, worauf die vereinzelten grossen, ovalen Zellkerne hinweisen (N_3); ein Vorgang, der als Parallele zu denselben Erscheinungen an den Basalmembranen der Hypodermis gewisser Insekten gemahnt, die verschiedentlich in der Literatur Erwaehung finden und die von mir u.a., besonders gut ausgebildet, an der Hypodermis der Giftdornen von *Automeris incisa* beobachtet wurden (BARTH 1954). Die Hodenkapsel erhaelt durch diese aeussere Schicht eine grosse Festigkeit und schuetzt den Inhalt vor mechanischen Einfluessen. Die Tracheen sind dort, wo die Anfaenge der Follikel an die Hodenwand stossen, — diese Germinalzonen liegen immer peripher — relativ duenn (Taf. I, Fig. 9), koennen aber an anderen Stellen der Kapsel von betraechtlichem Durchmesser sein. Die aeussere, d.h. tracheale Hodenwandschicht, besitzt damit eine wechselnde Staerke: am Germinarium und in seiner naeheren Umgebung ist sie nur schwach ausgebildet (in Taf. I, Fig. 9 erscheint sie wegen der diagonalen Schnittfuehrung breiter zu sein); dafuer ist an diesen Stellen die innere Schicht kraeftig ausgebildet. An den uebrigen Zonen des Hodens, wo Follikel mit aelteren Zysten peripher angetroffen werden, ist das Gegenteil der

Fall: die tracheale Schicht (Pseudoepithel) nimmt an Staerke zu wegen der zahlreicheren und groesseren Tracheen, waehrend die epitheliale Schicht schnell duenner wird und zuletzt in der Naehe des *vas efferens* membranartig geworden ist und nur noch Reste von degenerierten Kernen zeigt.

Zwischen den aelteren Teilen der Follikel woelbt sich die Hodenkapsel in das Innere der Gonade ein und nimmt groessere Tracheenaeste mit, die von diesen Vorspruengen aus, die duenne innere Schicht durchbrechend, sich zwischen die Follikel schieben, sich dann aufspalten und in alle Teile des Inneren vezweigen (Fig. 9 u. 10). Sie dringen aber nie in die Follikel selbst ein, sondern legen sich hoechstens an deren Aussenwand locker an.

Das am oral gelegenen Ende der Gonade entspringende und bis zum Hals reichende Aufhaengeband stellt die Fortsetzung der Hodenwand dar (Fig. 1). Es besteht aus einem soliden Strang von mesodermalen Zellen, der in die epitheliale innere Schicht der Hodenwand uebergeht, und aus einem zuerst dickeren, in Richtung zum Kopf hin an Staerke schnell abnehmenden Zylindermantel des trachealen Pseudoepithels. Im letzten Teil des Bandes fehlt diese letztere Schicht voellig.

An der Austrittsstelle des *vas deferens* aus dem Testikelkoerper findet sich nur noch die epitheliale Schicht, die seinem Innenepithel direkt anliegt und hier an Staerke wieder zugenommen hat, nachdem sie am Anfang der *vasa efferentia* ueberaus duenn geworden war. Die tracheale Schicht, vor der Austrittsstelle des Samenleiters von betraechtlicher Dicke, verschwindet am *vas deferens* voelig. Unmittelbar nach dem Austritt aus dem Hoden erscheinen in der aeusseren Epithelschnicht des Samenleiters die ersten Ringmuskelfasern, die schnell an Menge zunehmen und sich zu einem geschlossenen Ringmuskelmantel vereinigen.

Der Raum zwischen den Follikeln ist mit einer wasserklaren Fluessigkeit ausgefuellt, die sich gegenueber den Fixadoren wie die Haemolymphe verhaelt; nur nach Osmium-Sublimat-Fixierung zeigt sie Anhaeufungen von groesseren oder kleineren, geschwaerzten Kugeln (Taf. V, Fig. 11), die als Fettsubstanzen angesehen werden muessen. Dieselben Kugeln finden sich auch in den Zellen der Follikelwand und der Hodenkapsel und duerften Nahrungssubstanzen darstellen. Ihre Anzahl und Groesse sind individuellen Schwankungen unterworfen und duerften mit dem Funktions- bzw. Ernaehrungszustand des Tieres zusammenhaengen. In der Hodenfluessigkeit finden sich vereinzelte Amoebocyten mit grossen Kernen und lockerem Protoplasma. Nach Fixierung mit Helly oder osmiumhaltigen Fluessigkeiten beobachtet man in ihnen zahlreiche, immer gleichgestaltete Mitochondrien (Taf. V, Fig. 12, 13 u. 14) von ovalen Umriss. Nach Behandlung mit Da Fano, eine fuer die Fixierung der Golgi-Substanz adequate Methode mit Kobaltnitrat und Silbernitrat zeigt sich eine grosse Anzahl stark geschwaerzter Faeden, die in allen Richtungen das Protoplasma, oft gebuendelt, durchlaufen (Taf. V, Fig. 15). Diese Faeden, die oft netztartig zusammen zu haengen scheinen, werden zwar regelmaessig gefunden, ob sie aber wirklich die Golgi-

Substanz dartellen oder nur Artefakte sind, moechtlich offen lassen. Beide Befunde, Mitochondrien und Fettkugeln, lassen auf einen lebhaften Stoffwechsel zwischen Follikellinhalt und Haemolymphe schliessen. Auf eine solche Aktivitaet weist auch das Vorhandensein zahlreicher Tracheen zwischen den Follikeln hin.

Der apikale Teil des Follikels wird in der Literatur zumeist als sein Anfangsteil angesehen. Diese Bezeichnung kann jedoch nicht aufrecht erhalten werden, wenn wir, wie anfangs zitiert, die Hodenkapsel als Teile der urspruenglichen Genitalleiste des Embryos betrachten und annehmen, wie es vielfach nachgewiessen ist (s.z.B. die embryologischen Arbeiten von HEYMONS u.a.), dass die germinativen Zellen (Urkeimzellen) in die Genitalanlage eingewandert sind. Hiernach begann die Bildung des Follikels an seiner heutigen Austrittstelle in das *vas efferens*. Dieser Pukt, d.h. der Muendugsteil des Follikels in das *vas efferens*, bildet den Anfangsteil des Follikels, waehrend das apikale Ende seinen Endteil darstellt. Diese Annahme erleichtert des weiteren die Homologisierung der Follikelwand, die sich als ein einschichtiges, duennes Epitel erweist (Taf. I, Fig. 9, FE): Beim Eindringen nahmen die Urgeschlechtszellen Teile der Genitalleiste mit in deren Inneres, gleichsam diesselbe vermittels Einstuelpungen durchdringend oder die Zellmasse der Leiste dillatierend, so dass die heutige Follikelwand dem Epithel der Hodenkapsel homolog ist. Histologisch gesehen sind beide Epithelien sowohl bezueglich des Protoplasmas wie auch der Kerne sich sehr aehnlich, doch ist das Epithel der Hodenkapsel staerker und seine Kerne sind wesentlich groesser als die der Follikelwand. Diese, zwar fuer sich sprechende Annahme muesste erst noch durch embryologische Studien erwiesen werden.

Das duenne Follikelepithel (Taf. I, Fig. 9, FE) legt sich am Follikellende eng an das Epithel der Hodenkapsel an. Letzteres umgibt den Endkopf des Follikels und tritt ein Stueck in das Innere des Hodens ein, waehrend sich an dieser Stelle der tracheale Teil Kapsel vestaerkt und sich ebenfalls nach innen einwoelbt, um mit zahlreichen Trache die Innenhuelle der Hodenkapsel zu durchbrechen (Schema, Taf. Fig. 16). Diese Tracheen geben sowohl Zweige an die Wand des Follikels ab, wie sie auch weiter in das Innere vordringen und dieses voellig durchsetzen, so dass alle Teile des Hodeninhalts mehr oder wenig gleichmaessig mit Sauerstoff versorgt werden. Die Wand des Follikels ist am Endkopf gleichmaessig duenn und besitzt kleine, ovale, etwa im gleichen Abstand gelagerte Kerne. Waehrend die epitheliale innere Huelle der Hodenkapsel syncytial ist, sind die Zellen des Follikelepithels am Endteil des Schlauches deutlich voneinander durch diagonal gestellte Zellgrenzen getrennt. Bei einem Schnitt mit starker Ueberfixierung konnte ein Auseinanderbrechen des Epithels an diesen Grenzen beobachtet werden. Dabei zeigten sich deutlich die diagonalen Grenzen (Taf. I, Fig. 9, Taf. V, Fig. 16), wodurch der Zusammenhalt benachbarter Zellen natuerlich betraechtlich verstaerkt wird. Die im Schnitt spindelfoermig erscheinenden Epithelzellen sind in der Flaechenansicht schollenfoermig. Diese voneinander getrennten Zellen finden sich nur am Endkol des Follikels;

zum Anfangsteil, d.h. zur Basis hin, wird das Epithel syncytial. Damit aendert sich auch sein allgemeiner Anblick: Die Hoehe des Syncytiums schwankt in unregelmaessiger Weise; besonders in Kernnaehe verstaerkt es sich auffallend; ebenfalls vergroessern sich die Kerne und nehmen eine langgestrekte, unregelmaessige Form an (Taf. VI, Fig. 17). Die Aussen- und Innenwand des Syncytiums verstaerken sich membranartig, so dass besonders bei der Innenwand von einer *membrana propria* gesprochen werden kann (Fig. 17).

An den hinteren Abschluss des Follikelschlauches legt sich auf der Innenseite eine grosse Anzahl gleichmaessig geformter mehr oder weniger ovaler Kerne an, die in eine gleichmaessige, kaum fibrillierte Plasmamasse eingebettet sind. Sie liegen alle mit ihren Laengsachsen senkrecht zur Follikelwand (Taf. I, Fig. 9, Taf. V, Fig. 16), die hier als Abschluss des Follikels halbkuglig gewoelbt ist, so dass alle Kerne mehr oder weniger radial gestellt erscheinen. Der ungefaehre Treffpunkt der Radien ist eine einzige grosse Zelle, deren Protoplasma wesentlich dichter als das benachbarte ist und zahlreiche Granulationen beitzt. Der grosse Kern ist rund, zumeist regelmaessig kugelfoermig und besitzt einen grossen, oft in mehrere Teilstuecke fragmentierte Nucleolus und ein gleichmaessig ueber den ganzen Inhalt verteiltes, feinmaschiges Chromatin. Er bietet damit den Anblick eines estark aktiven Somakerns. Von dem den Kern umgebenden Plasmahof gehen fibrilloese Plasmaauslaeufer aus, die sowohl zu dem Lager der oben beschriebenen radial gestellten Kerne wie auch in das Innere des Follikels ausstrahlen, in geringer Entfernung vom Zentrum der Zelle jedoch undeutlich werden und in die uebrige Protoplasmamasse uebergehen. Zwischen diesen Auslaeufern lassen sich scharfe Zellgrenzen erkennen (Taf. I, Fig. 9). Diese Zelle ist damit als “Apikalzelle” gekennzeichnet.

Dieser Zelltyp wurde bei Lepidopteren bereits 1886 von Spichardt fuer den Seidenspinner beschrieben; er betrachtete die Zelle als “Keimstelle”. In der alteren Literatur wurde diese Zelle verschiedentlich diskutiert (Toyama, Gruenberg, Cholodkowsky, Tichomirow). Gruenberg, der ihr den Namen “Apikalzelle” gab, beschrieb sie als “assimilierende und sezernierende Naehrzelle”, die im alternden Hoden (z.B. Imagines von Lepidopteren) degeneriert, wobei gleichzeitig die noch nicht endgueltig differenzierten Keimzellen absterben. Cholodkowsky sieht sie als “nutritive und phagocytaere” Zelle an, waehrend Toyama (1894) ihr u.a. eine Stuetzfunktion zuschreibt, aenhlich wie sie Demokidoff spaeter (1902) von der als “Linse” bezeichneten Sonderbildung im Hoden von *Tenebrio molitor* angibt. Waehrend ein Teil der Autoren die Apikalzelle aus einer Keizelle sich entwickeln laesst, wie Verson und Cholodkowsky, wird sie von anderen, wie Toyama und Tichomirow, als echte Stromazelle bezeichnet. Diesen Punkt zu entscheiden, bleibt einer embryologischen Untersuchung ueberlassen, dagegen kann ueber Stellung und Funktion der Zelle die Histologie Einiges aussagen.

Wie oben bereits erwaehnt, liegt an der apikalen, den Keimschlauch abschliessenden Wand ein Lager von gleichfoermigen, ovalen und radiaer gestellten Kernen, die von einer syncytialen, homogenen

Protoplasmamasse eingeschlossen werden (Taf. I, Fig. 9). Dieses Syncytium reicht weiter abwaerts in den Schlauch hinein und nimmt ausser der oben gekennzeichneten zentralen Apikalzelle noch die ersten Spermiogonien-gruppen bis zum 2^4 Stadium in sich auf. Von dem Protoplasma dieser Masse grenzt sich das der Spermiogonien fruestens an den 2^3-Rosetten deutlich ab (Taf. I, Fig. 9, 2^3-R). Der uebrige Teil der Masse ist deutlich fibrillaer. Die Orienterung der Plasmafaeden ist einheitlich radiaer von der Follikelwand zur Apikalzelle gerichtet. In Richtung dieser Streifen loesen sich aus dem Lager der ovalen Kerne einzelne oder Gruppen von Kernen und wandern anfangs in Richtung auf die Apikalzelle, dann aber in mehr oder weniger groesserem Abstand an ihr vorbei und in den Schlauch hinein. Diese Zugrichtung ist in Fig. 9 nicht immer deutlich zu sehen, in benachbarten Schnitten aber immer nachweisbar. Im Anfang dieser Wanderung tritt eine Differenzierung in zwei Gruppen ein. Ein Teil der Kerne beginnt sich abzurunden und zu wachsen. Sie stellen die primaeren Spermiogonien dar. Der restliche Teil der apikalen Kerne bleibt in seiner Form erhalten und schiebt sich zwischen die Zysten der Spermiogonien. Diese Kerne werden als Zystenwandkerne bezeichnet. Das Wachstum der Kerne der primaeren Spermiogonien geschieht durch Aufnahme von Fluessigkeit, denn die Chromatinmasse bleibt quantitativ die gleiche; der Kern insgesamt gesehen wird heller. Das Chromatin durchlaeuft die Schritte der Prophase (s.u.) und bildet die Chromosomen aus, worauf eine normale Aequationsteilung erfolgt. Beide Tochterzellen teilen sich, ohne einen Ruhekern auszubilden, ein zweites Mal. Die resultierenden vier Zellen (Taf. I, Fig. 9, 2^2-R) nehmen birnenfoermige Gestalt an und legen sich mit den spitzen Enden aneinander, so dass eine Rosettenform gelbildet wird, in diesem Falle eine 2^2-Spermiogonien-Rosette. Eine weitere folgende Teilung aller vier Zellen ergibt die naechste 2^3-Rosette (Taf. I, Fig. 9, 2^3-R) mit acht Spermiogonien.

In diesem Stadium, wie auch schon schwaecher in der 2^2-Rosette, findet sich ein deutlicher Hof von verdichtetem Protoplasma um jeden Zellkern. Jedenfalls lassen sich in diesem Stadium schon die Zellgrenzen der Spermiogonien erkennen (Taf. V, Fig. 14). Im Zentrum der 2^2- und 2^3-Rosetten tritt ploetzlich ein unregelmaessiger Haufen von Mitochondrien auf (Tab. VI, Fig. 19 a MC), die in den zentralen, spitzen Enden der ebenfalls birnenfoermigen Zellkoerper gelegen sind. Diese Protoplasmabildungen finden sich ebenfalls im 2^1-Stadium wie auch bei den primaeren Spermiogonien, wenn diese sich aus dem Lager der apikal gelegenen Kerne losloesen; hier haeufen sie sich jedoch nicht, sondern liegen als sehr kleine Koerperchen verstreut in dem den Kern umgebenden Protoplasma.

Wenn die 2^3-Rosette weiter in den Schlauch nach unten gewandert ist (Taf. I, Fig. 9, 2^3-R), beginnt das Protoplasma einen Teil seiner Fibrillen auf der Oberflaeche der jetzt kugelfoermigen Rosette (Taf. IV, Fig. 19 b) zu konzentrieren und diese gleichmaessig zu umgeben. Je weiter die Rosette durch das Nachwachsen neuer Rosetten abwaerts gedraengt wird (die Wanderung der Rosette ist eine passive Erscheinung), desto mehr schreitet die Konzentration weiter fort, so dass nach einer weiteren Teilung aller Zellen die 2^4-Zyste von einer bindegewebsartigen Schicht eingeschlossn ist, die sich and die der Nachbarzyste anlegt (Taf. VI, Fig. 20). Mit dem Protoplasma erscheinen auch die ZysteWandkerne zwischen den Zysten (Taf. V, Fig. 21, 22 u. 23). Anfangs, bei den 2^2-und 2^3-Rosetten, waren diese noch gleich geformt, in Hoehe der 2^4-und 2^5-Zysten jedoch vergroessern sie sich schnell (Taf. IV, Fig. 17, 20, 24, Taf. VII, Fig. 25, Taf. IV, Fig. 26), passen sich dem vorhandenen Plasma gefuellten Raum zwischen den Zysten an (Fig. 20) und erhalten spaeter ein stark gelapptes Aussehen (Taf. VII, Fig. 27). Eine eigentliche Zystenwand kann hier noch nicht festgestellt werden, denn es existieren noch keine Grenzen zwischen den Protoplasmaschichten benachbarter Zysten; es muss in der Zone der ersten Spermiogonienzysten noch von einem Syncytien gesprochen werden, das bis zum apikalen Pol hinauf reicht und sowohl die Zysten wie die primaeren Spermiogonien und die undifferenzierten Kerne des Apikallagers in sich einschliesst (Taf. V, Fig. 16). Anders verhaelt sich die Protoplasmamasse zwischen den letzten Zystenstadien, d.h. zwischen den 2^6-, 2^7- u. 2^8-Zysten. Hier tritt eine Trennung der Zystenwaende ein, so dass zwischen den Zysten je eine Doppelgrenze entsteht, die oft auseinander weichen und freie Raeume entstehen lassen, die mit Lymphfluessigkeit ohne Amaebozyten gefuellt sind. Hier sind die Zysten endgueltig selbstaendige Koerper geworden, wie sie bis zum Anfang des Follikels gefunden werden; logischerweise kann somit erst von dieser Stelle an von echten Zysten gesprochen werden, waehrend vorher nur "Spaltraeume" mit scharfer innerer Begrenzung bestehen, die im apikalen Syncytium eingelagert sind.

Die Wand besteht bei den 2^6-2^8-Zysten aus einer mehr oder weniger duennen Schicht von Protoplasma mit einzelnen grossen Kernen, die der zweitenruppe von Kernen, entsprechen, die aus dem apikalen Kernlager abwaerts wanderten. Im Wachstumsstadium der 2^8-Zyste (s.u.), wenn der Durchmesser der Aequatorialplatte auf das Dreifache anwaechst (Taf. VII, Fig. 28, Textbild Fig. 29), wird die Wand stark gedehnt, so dass sie ueberaus duenn wird, wobei die grossen Kerne in Erhoehungen untergebracht wergen, die sich zumeist in den Winkeln zwischen den Zysten befinden. Die Kerne der Zystenwand nehmen waehrend des Wachstums im 2^8-Stadium laufend an Masse zu und werden immer mehr gelappt (Taf. VII, Fig. 25 u. 27). Die in Fog. 27 dargestellten Kerne sind aus der Wand von 2^7-und 2^8-Zysten vor dem Wachstumsstadium. In spaeteren Stadien ist die Lappung noch staerker ausgepraegt, wie es in Fig. 24 fuer einen solchen Kern aus der Wand einer jungen Spermidenzyste dargestellt ist. Den Hoehepunlit iher Groesse erreichen diese Kerne in den Waenden derjenigen Zysten, in denen der letzte Teil der Prophase fuer die erste Reifeteilung vor sich geht (Diakinese) (Taf. VII, Fig. 25) Von hier nimmt das Kernvolumen schnell ab, waehrend die Lappung noch weiter betont wird. Spaeter in den

Zystenwaenden der Spermiohistogenese ist die Schrumpfung so weit fortgeschritten, dass die Kerne nur noch eine duenne Scheibe mit weniger als 2 oder 3 micra Hoehe darstellen.

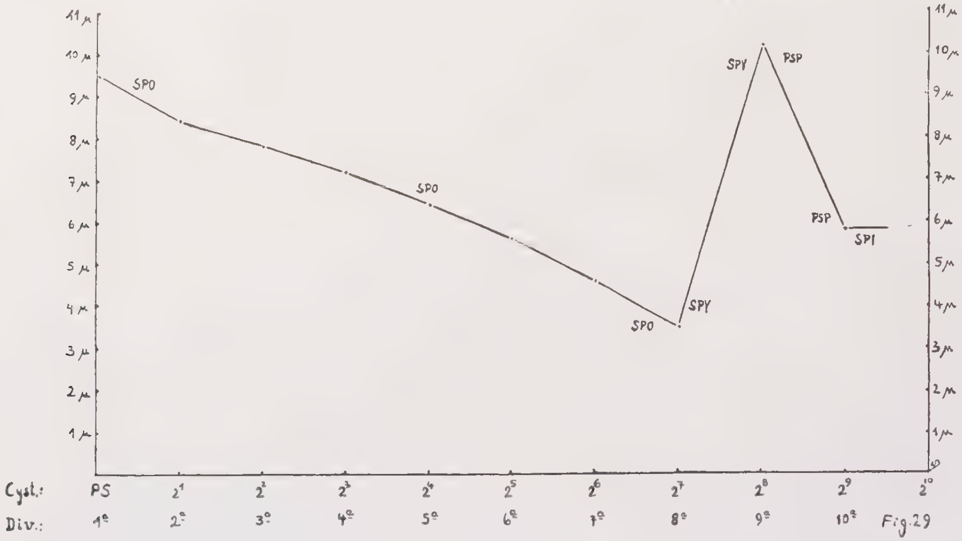


Fig. 29 — *Graphische Darstellung der Durchmesser der Aequatorialplatten waehrend der 1_0 Teilungen vom primaeren Spermiogonium zum Spermium.* (S. Seite 147).

Das starke Wachstum des Spermiogonienkerns geht aus der folgenden Tabelle und der graphischen Darstellung in der Figur 29 hervor:

ANZAHL DER ZELLEN JE ZYSTE	STADIUM	VORGANG	DURCH-MESSER IN μ
Einzelzelle	Primaeres Spermiogonium	1. Vermehrungsteilung	9,5
2^1-Zyste	Sekunderes Spermiogonium	2. Vermehrungsteilung	8,4
2^2-Zyste	idem	3. Vermehrungsteilung	7,8
2^3-Zyste	idem	4. Vermehrungsteilung	7,2
2^4-Zyste	idem	5. Vermehrungsteilung	6,4
2^5-Zyste	idem	6. Vermehrungsteilung	5,6
2^6-Zyste	idem	7. Vermehrungsteilung	4,6
2^7-Zyste	idem	8. Vermehrungsteilung	3,5
2^8-Zyste	Spermiocyte	Wachstum und erste Reifeteilung	10,2
2^9-Zyste	Praespermide	2. Reifeteilung	5,8
2^{10}-Zyste	Spermide, Spermium	Spermiohistogenese	——

Zusammenfassend laesst sich ueber den Entwicklungsgang der Zysten folgendes sagen: Die Kerne im apikalen Lager stellen mit ihrer syncytialen Plasmamasse die undifferenzierten Geschlechtszellen dar. Von diesen bildet eine Gruppe sich zu den eigentlichen Spermiogonien um, die durch 8 Vermehrungsteilungen sich jeweils auf 256 Spermiocyten vermehren und anschliessend nach dem Wachstum zwei Reifeterlungen durchlaufen, um 1 026 Spermiden je Zyste zu bilden (s.u.). Eine andere Gruppe, der Rest der Kerne des apikalen Lagers, differenziert sich in Zystenwandkerne, die somit nur als sekundaere Bindegewebskerne bezeichnet werden koennen — doch besteht fuer diese Benennung m. E. keine Notwendigkeit, so dass ich den Ausdruck "Zystenwandkerne" beibehalten werde. Diese Kerne wandern im Syncytium des apikalen Protoplasmas zwischen die Spermiogonien und deren Rosetten. Das Protoplasma umgibt die Rosetten mit Filamentenschalen; die Kerne werden mit eingeschlossen. Diese bilden nun keine passiven Formen aus, sondern erweisen sich waehrend der Vermehrungsteilung und waehrend der Wachstumszeit der Spermiocyten als aktive Kerne, denen — da das Protoplasma der Zystenwaende kein Anzeichen von Druesentaetigkeit erkennen laesst — nur eine nutritive Funktion zugesprochen werden kann, dieses insbesondere hinsichtlich ihrer schnellen Degeneration waehrend der spaeteren Spermiohistogenese, wenn die Spermiden in Spermien umgewandelt werden, ein Vorgang, bei dem kein Nahrungsverbrauch erforderlich ist.

Die Apikalzelle hebt sich im Germinarium deutlich von den beiden beschriebenen Zelltypen ab. Sie besitzt einen fast immer sphaerischen Kern mit grossen Nucleolus und geichmaessig verteiltem, aufflallend fein granuliertem Chromatin. Die Kernwassermenge ist relativ gross: Der Kern erscheint heller als die undifferenzierten Geschlechtszellenkerne, aber doch dichter als die Spermiogonenkerne. Auffallend ist seine starke Membran (Fig. 9, APZ u. Fig. 10), die noch durch das seine starke Membran (Taf. I, Fig. 9, APZ u. Taf. IV, Fig. 10), die noch durch das angelagerte Chromatinmaterial betont wird. Das Protoplasma im eigentlichen Zellkoerper der Apikalzelle ist nach einer gewoehnlichen Fixierung (Carnoy, Bouin oder Gilson) stark vakuolig, fast schaumig; nach Fixierung mit O_sO_4 — Mischungen dagegen sehr stark mit feinen dunklen Granulationen beladen, die den Kern in dicht gelagerten Schalen umgeben. Diese Bildung bietet denselben Anblick, wie die Mitochondrienanhaeufungen in Kernnaehe in den Zellen der Prophase der Reifeteilungen (s.u.). Es kann angenommen werden, dass es sich hier ebenfalls um Mitochondrien handelt, die bei anderen osmiumfreien Fixationen herausgeloest werden. Im Beginn der strahlenfoermigen Protoplasmaauslaeufer in das Syncytium des Germinariums, gegen das die Apikalzelle deutlich abgegrenzt ist (Fig. 9), fehlen die Mitochondrien voellig, das Protoplasma bildet hier Filamente oder Fibrillen, die in die gleichen Bildungen des syncytialen Plasmas sich fortsetzen.

Der histologischen Beschreibung zufolge muss eine sezernierende und rein nutritive Funktion der Apikalzelle ausgeschlossen werden, wenigstens insofern als die Zelle keine Sekrete oder Naehrstoffe an das Syncytium der Geschlechtszellen liefert. Dieses letztere ist schon wegen ihrer topographischen Lage, entfernt von der Follikelwand und damit von der Testicolymphe, nicht moeglich. Andererseits ist dieserorts eine groessere Zufuhr von Naehrmaterial nicht notwendig, da hier kein Wachstum statthat und die vorhandene Protoplasmamenge als Energiespender fuer die ablaufenden Teilungs- und Transportvorgaenge ausreichen duerfte. Die geringen Verluste duerften gleichzeitig mit der Ueubildung des Plasmas des Apilcallagers ausgeglichen werden. Diese Neubildung benoetigt keine spezielle, entfernt liegende Naehrzelle, da das Lager direkt an der Follikelwand liegt und von hier ernaehrt werden kann.

Die Frage nach der Funktion der Apikalzelle liegt m. E. auf regulatorischem Gebiet: Man sieht, dass die undifferenzierten Geschlechtszellen des Apikallagers in Richtung auf die Apikalzelle einzeln oder in Scharen auszuwandern beginnen (Fig. 9, NN). Kurz nach dem Austritt aus dem Lager differenzieren sie sich in Spermiogonien (primaere) und spaetere Zystenwandkerne. Die Kerne treten nicht in die Auslaeufer der Apikalzelle ein, die eine direkte Verbindung zu dem ,allgemeinen Syncitium darstellen, sondern gleiten seitlich an der Apikalzelle vorbei (in der linken Haelfte der Fig. 9 sehr deutlich, in der rechten Haelfte durch Ueberlagerung weniger gut sichtbar) in Richtung der von der Apikalzelle ausgehenden Protoplasmatreifung weiter in das Follikelinnere. Ob dieser vorgeschriebene Weg, der alle Zellkerne mehr oder weniger nahe an der Apikalzelle vorbeifuehrt, auf Plasmastroemungen, verursacht durch die Apikalzelle, beruht, kann moeglich sein, ist jedoch in keinem Falle aus dem histologischen Bild abzulesen. Andererseits ist es nicht notwendig, eine Plasmatroemung anzunehmen, sondern die Regulierung des Austritts der undifferenzierten, voellig gleichwertigen Zellen aus dem Keimlager einerseits und deren Differenzierung, die Orientierung ihrer Wanderung wie auch die regulierte Verteilung der beiden Kernsorten im Verlauf der Zystenbildung anderseits können ebensogut auf Aenderung der Spannungszustaende im Protoplasma beruhen, die ihrersetis wiederum auf chemischem Wege verursacht werden koennen etwa durch Fermente oder Hormone. Es bleibt einer spaeteren Untersuchung ueberlassen, durch Behandlung mit Hormonen eine Klaerung dieser Vermutungen herbeizufuehern. Das histologische Bild schliesst des weiteren eine Stuetzfunktion der Zelle im Germinarium nicht aus, die eventuell auf Turgorregulierung beruhen kann.

In den Zysten, die nun immer weiter durch die Entstehung neuer im Germinarium nach dem basalen Teil des Follikels gedraengt werden, durchlaufen die Geschlechtszellen ihre Umwandlung zu reifen Spermien. Im basalen Teil des Schlauches loesen sich die Zysten voneinander und schwimmen frei in der Testicolymphe (Taf. VII, Fig. 30, rechts). Im Gebiet der Muendung des Follikels in das *vas efferens* beginnt eine plotzliche Umaenderung der Zystenwaende: Die Zysten stauen sich hier, legen sich wieder dicht aneinander und ihre Waende beginnen eine schnell fortschreitende Degeneration von Protoplasma und Kern zu zeigen, die zuletzt an der Follikelmuendung selbst in eine schnell ablaufende Nekrose uebergeht (Taf. VII, Fig. 30). Von dieser Nekrose oder Histolyse bleibt die Follikelwand ausgeschlossen (Taf. VII, Fig. 31), die sich ohne Unterbrechung (in. Fig. 31 zufaellig an dieser Stelle durch den Schnitt zerissen) als Wand des *vas efferens* fortsetzt. In der Fig. 31 liegen rechts die in das *vas efferens* uebertretenden Spermienzysten. Ihre Waende sind in voller Aufloesung begriffen, wobei sich das Protoplasma in Schollen und Kugeln abloest und verfluessigt; ebenfalls werden die Kerne zerstoert. Diese beginnen ihre Degeneration durch Verklumpen des Chromatins, das in groessere oder kleinere, unregelmaessige Teile zerfaellt (Taf. VII, Fig. 32). Spaeter loest sich die Kernmembran auf und die weiter zerfallenden Chromatinteile liegen frei im degenerierenden Protoplasma; sie lassen sich bis zum Schluss der Protoplasmaaufloesung in den Restschollen nachweisen (Fig. 30, CRR). Auf diese Weise werden die Spermienbuendel aus den Zysten befreit und treten jetzt in das *vas efferens* ein (Fig. 30 und 31, SBB).

Waehrend die zentral im Follikel gelegenen Teile der Zystenwaende voellig aufgeloest werden, laeuft dieser Vorgaeng an den peripher gelegenen langsamer ab, so dass sich an die Follikelwand ein Polster von nekrotischen, chaotisch aussehenden Gewebeschichten anlegt, das basalwaerts an das Epithel des *vas efferens* anstoesst (Fig. 31). Dieses setzt sich aus hohen, schmalen, zylinderfoermigen Zellen zusammen (Fig. 31, EVE) die immer doppelkernig sind. Aussen wird es von der einschichtigen Wand, die die Fortsetzung der Follikelwand ist, eingeschlossen. Die beiden runden oder schwach ovalen, kleinen Zellkerne liegen uebereinander, da die Zellbreite gerade einer Kernbreite entspricht; da die Kerne immer mehr oder weniger in derselben Hoehe liegen, ergeben sich zwei Schichten von Kernen im Epithel. Das Protoplasma ist sehr homogen, laesst keine groebere Wabenstruktur erkennen und enthaelt zahlreiche kleine Granulationen (Fig. 31). Immer finden sich mehrere groessere ovale Vakuolen in den Epithelzellen, sowohl nahe der Oberflaeche, wie oberhalb oder unterhalb der Kerne. Die apikale Flaeche der Zelle bildet ein Rhabdorium von sehr bedeutender Hoehe aus, das durch seine Groesse und Deutlichkeit einen Wimperbesatz vortaeuschen kann. Apikal wie basal ist die Begrenzung des Rhabdoriums sehr scharf. Kern und Plasma lassen nicht auf druesige Funktion des Epithels des *vas efferens* schliessen. Dagegen muessen wir eine reabsorbierende Taetigkeit annehmen. Dafuer spricht einerseits das enorme Rhabdorium, das an die Groesse des gleichen Organnells im Darmepithel von gewissen Wassersinsekten (Larven von Blepharoceriden) heranreicht, andererseits das Vorhandensein von grossen Vakuolen, die im basalen Zellteil ebenso gross sind wie im apikalen, also eine Passage von Substanzen durch die Zelle andeuten(im Gegensatz zu einer Sekretion, bei der die Vakuolen in Richtung zum Apikalpol an Groesse zunehmen und im Basalpol mehrfach kleiner sind oder ganz fehlen). Hierauf deutet ebenfalls das Vorhandensein von bedeutenden, stetig nachfliessenden hochwertigen Nahrungsstoffen hin (hervorgegangen aus der Histolyse der Zystenwaende), die in den *vasa effe-*

rentia und im *vas deferens* sich anreichern wuerden, dort aber absolut unnoetig sind, da eine ausgebige Ernaehrung der Spermien nicht mehr erfolgt. Weiterhin ist hier zu erwaehnen, dass das histologische Bild der Lymphe im *vas efferens* und *vas deferens* sich stark unterscheidet: Die Quantitaet fixierbarer Eiweissubstanz ist im *vas efferens* vielmals hoeher als im *vas deferens*. Aus diesen vier Gruenden erachte ich es fuer wahrscheinlich, dass das Epithel der *vasa efferentia* groessere Teile der durch Nekrose verfluessigten Naehrsubstanz absorbiert und der Haemolymphe direkt wieder zufuehrt.

Wie schon in der allgemeinen Anatomie (s. oben) dergelegt wurde, sind die *vasa efferentia* nur sehr kurz und muenden bald schon in das *vas deferens* ein (Fig. 2 und 3).

4. SPERMIOCYTOGENESE.

a) *Spermiogonien.*

In Bezug auf das karyologische Bild sind die schwach ovalen Kerne des Apikallagers alle gleichwertig. Sie zeigen alle die gleiche zentral gelegene, hetropycnotische Chromatinmasse (Fig. 33), von der aus in alle Richtungen des Kerns sich verzweigende, nur schwach faerbbare Gerueste ausgehen. Unmittelbar nach dem Austritt aus dem Lager beginnen die spaeteren Zystenwandkerne sich in der Laengsachse, die der Bewegungsrichtung entspricht, zu strecken. Die Verteilung des Chromatins bleibt etwa dieselbe wie oben beschrieben, nur dass sich die Zentralmasse entsprechend der langen Kernform ebenfalls in der Richtung der Kernlaengsachse streckt und dass der Unterschied im Verdichtungsgrad des Chromatins sich ausgleicht, d.h. auch das Chromatingeruest faerbt sich in der gleichen Weise wie die zentrale Masse (Fig. 34). Auf die weitere Veraenderung dieser Kerne wurde bei Besprechung der Zystenwand (s. oben) schon des naeheren hingewiesen. Sie bestehen so lange als Nahrungskerne der systen, bis sie am Anfang des Follikels an der Muendung des *vas efferens* der allgemeinen Nekrose der Follikelwand anheim fallen (Fig. 31).

Anders verlaeuft die Weiterentwicklung der germinativen Zellkerne. Nach dem Verlassen des Apikallagers runden sich die Zellen ab und treten zwischen die Wanderbahnen der Zystenwandkerne, wo sie verharren. Dieser Punkt kann naeher oder weiter von der Apikalzelle entfernt sein, oder auch mehr oder weniger tief innerhalb des Follikels liegen. In Fig. 9 liegen primaere Spermiogonien sowohl nahe an der Follikelwand, wie auch tief im Follikel, sogar tiefer als einige 2^3-Rosetten. Beide Zellarten besitzen in ihrem sie umgebenden Protoplasma, besonders in dem frontal in der Wanderrichtung gelegenen, zahlreiche kleine, regelmaessig oval abgerundete Koernchen, die dieselbe Afinitaet zu Haematoxylin zeigen wie sie die Mitochondrien der spaeteren Rosetten besitzen. Waehrend diese (vermutlichen) Mitochondrien bei den Zystenwandkernen bald voellig verschwinden, bleiben sie den germinativen Zellen, die wir nach ihrer Differenzierung als primaere Spermiogonien bezeichnen muessen, erhalten und legen sich schalenfoermig um den Kern, fast das ganze spaerlich vorhandene Protoplasma des Spermiogonius durchsetzend. Eine aehnliche Anordnung findet sich spaeter in den Spermiocyten wieder. Des weiteren unterscheiden sich die primaeren Spermiogonienkerne bald schon von den Zystenwandkernen durch ihr Wachstum, das gleichzeitig mit ihrer Abrundung vor sich geht. Dieses Wachstum erfolgt durch Aufnahme von Fluessigkeit, so dass der Kern stark aufgehellt erscheint, dabei sich auf etwa 10 μ Durchmesser vergroessert. Mehr oder weniger zentral gelegen findet sich eine Chromatinmasse, die sehr dicht kondensiert ist, viel dichter als die Zentralmasse der undifferenzierten Kerne des Apikallagers (Fig. 35). Ob dieser Koerper dem heteropycnotischen Koerper der Spermiocyten gleichwertig, ist, der die beiden Gschlehtschromosome und die drei bivalenten Machromosome A, B und C enthaelt und deswegen als "fuenfwertiger Koerper" bezeichnet wird, liegt nahe, da sich die genannten Elemente waehrend der gesamten Prophase der Reifeteilungen heteropycnotisch verhalten. In diesem Falle muss der Koerper hir (jedoch mit ausdrueklichem Vorbehalt, da seine Zusammensetzung nicht klar erwiesen ist, siehe unten) als "achtwertiger Koerper" bezeichnet werden, zusammen gesetzt aus drei Paaren der Macrochromosome A, B und C und den beiden Geschlechtschromosomen X und Y. Von ihm gehen Geruestfaeden nach allen Seiten aus, die mit groesseren oder kleineren Chromatinkoernen beladen sind (Fig. 35).

Das primaere Spermiogomium beginnt bereits waehrend seiner Volumenvergroesserung mit der Vorbereitung zur ersten spermiogonialen Teilung, um in das 2^1-Stadium ueberzugehen. Dieser aquationalen Teilungen erfolgen insgesamt acht in schneller Reihenfolge hintereinander, so dass bei Erreichen des 2^8-Stadiums sich das primaere Spermiogonium auf 256 vermehrt hat. Bei diesen Vermehrungsteilungen werden sowohl die Protoplasmamasse jeder Zelle wie auch die Kerne jeweils auf die Haelfte reduziert. Durch die gleichzeitig aber erfolgende Ernaehrung vermittels der Zystenwandzellen, wird das jeweilige Volumen bis zu einem gewissen Grad wieder restituiert. Messungen der Zelle, um diese Diminuierungen zu verfolgen, lassen sich nicht mit genuegender Sicherheit durchfuehren. Einfacher ist es, sich vermittels von Breitenmessungen der Aquatorialplatten jeder Teilung ein relatives Bild von den Veraenderungen zu machen. Siehe hierzu die Tabelle 1 und die Kurve in Fig. 29. Es wurden die Aequatorialplatten in einem einzigen Follikel gemessen und zwar jeweils in vollendeter Metaphase. Die Abnahme erfolgt waehrend der acht Teilungen in etwa gleichem Masse. Sehr steil dagegen ist die Abnahme nach der Wachstumsphase im 2^8-Stadium, da die 10. Teilung unmittelbar auf die 9. folgt, ohne dass die Kerne in ein "Ruhestadium" eintreten. Ein solches wird aber bei den Spermiogonienteilungen immer wieder eingeschoben, so dass der Abstand zwischen diesen Teilungen ausreichend gross ist, um einen teilweisen Ersatz der abgegebenen Substanz einer Zelle zu ermoeglichen.

Die Veraenderungen, die der Kerninhalt der Spermiogonien vor den Aequationsteilungen durchmacht, entsprechen im allgemeinen denjenigen der Somazellen: Der achtwertige Koerper bleibt vorest unveraendert bestehen. Die unregelmaessig verteilten und verschieden grossen Chromatinkoerper auf dem Liningeruest verteilen sich gleichmaessig, wobei sie alle etwa die gleiche Groesse annehmen. Jetzt zeigt es sich, dass das Geruest aus vielen Einzelfaeden besteht, die sich zum Teil umeinander schlingen. Diese Schlingen sind in Fig. 36 und 37 durch scharfe Fokalisierung des Mikroskops getrennt worden, so dass tiefer oder hoeher gelegene Schlingen nicht dargestellt wurden. Wie gross die Anzahl der Faeden ist, liess sich jedoch nicht nachweisen, doch steht nichts im Wege anzunehmen, dass sie der Anzahl des diploiden Chromosomensatzes entspricht, allerdings verringert um 8 Chromosome des achtwertigen Koerpers (zweimal A, B und C, dazu X und Y), also hier 14 Faeden. Die Faeden zeigen kurz darauf die Neigung sich zu verkuerzen, was aus dem geringen Abstand zwischen den Koernern zum Ausdruck kommt. Dabei erfolgt naturgemaess eine Verstaerkung der Faeden, die jetzt deutlicher sichtbar werden. Der achtwertige Koerper beginnt sich jetzt aufzuloesen (Fig. 38 und 39). In dem medianen Schnitt durch den Kern in Fig. 38 liegt im Zentrum des Kerns eine wirre Masse von Faeden, die sich oft in Schleifen legen, die von dem Zentrum ausgehen und wieder zu derselben Stelle zurueckkehren (Fig. 38, SCH); in Fig. 39 sind einige der Schleifen im Aufblick dargestellt (hohe Fokalisation des Kernschnittes). Die Faeden und Schleifen, in Fig. 40 vergroessert dargestellt, bestehen aus einem kraeftig sich mit Haematoxilin faerbenden Band, auf dem gleichgeformte, aber verschieden grosse Chromatinkoerner aufgereiht sind. Die Verkuerzung und Verdichtung der Faeden setzt sich weiter fort, so dass auch nach Aufloesung des achtwertigen Koerpers die Faeden optisch isoliert werden koennen. Dabei tritt eine sehr deutliche Laengsspaltung auf, wobei die Koerner aber noch in direktem Zusammenhalt bleiben, wie aus zufaelligen Querschnitten der Faeden (Fig. 41, QFA) zu ersehen ist. In Fig. 41 ist dieses Doppelfadenstadium mit hoch gelegener Fokalisation des Kernes dargestellt. In Fig. 42 und 43 ist durch Hinzunahme von hoeher und tiefer gelegenen Fadenteilen eine etwas chematisierte Darstellung wiedergegeben, um die an den Enden gelegenen dickeren Chromatinkoerner zu zeigen und ebenfalls um die duenne, schwach faerbbare Lininbruecke zwischen zwei Fadenenden abzubilden (Fig. 42, LB). Die Verdichtung und Verkuerzung setzsen sich weiter fort, wobei die einzelnen Koerenr Kontakt in der Laengsrichtung untereinander aufnehmen, so dass der Lininfaden unsichtbar wird und sich kompakte Chromatinteile bilden, die sich ausnahmslos an die Kernwand anlegen (Fig. 44, 45 und 46), so dass das Kernzentrum voellig leer bleibt. Jetzt sind die Chromosomen bereits einwandfrei zu zaehlen, es sind in jedem Falle 22 Koerper. Sie wandeln sich unter steter Verdichtung (Fig. 47) zu Metaphasen-Chromosomen um.

In dieser Form beginnen die Chromosomen sich von der Wand zu loesen und sammeln sich in der Aequatorebene des Kerns, zuerst aber voellig ungeordnet (Fig. 48), dann jedoch legen sie sich alle mit ihren Laengsachsen parallel zueinander und senkrecht zur genannten Ebene. Diese wird festgelegt durch die Centriolen, die ploetzlich an sich gegenueberliegenden Punkten erscheinen und Stemm- und Zugfasern ausbilden. Ehe diese "Polstrahlung" die Kernmembran erreicht, hat sich letztere aufgeloest, so dass die Aequatorialplatte der 22 Chromosomen frei in der Zelle liegt, durch die Polstrahlen am Schluss mit den Centriolen verbunden (Fig. 49 und 50). Die Mitochondrien bleiben ohne Veraendeungen gleichmaessig verteilt im Protoplasma liegen. Beim Uebergang der Metaphase in die Anaphase verkuerzen sich die Polstrahlen, die Chromosomen teilen sich in ihrem Aequator und die Tochterplatten entfernen sich voneinander. Jetzt werden zwischen diesen die Stemmfasern sichtbar, die von Centriol zu Centriol gehend keine Verbindung mit den Chromosomen aufnehmen (Fig. 51). Je groesser der Abstand zwischen den beiden Platten wird, desto dichter schliessen sich die Chromosomen zusammen (Fig. 52). Waehrenddessen beginnt die Zellmembran sich in der Aequatorebene einzuschnueren (Fig. 52). Beim Eintritt in die Telophase (Fig. 53) erreicht die Einschnuerung den Zylinder von Stemmfasern. An dieser stelle, entsprechend der Aequatorebene, beginnen diese Fasern, sich jede fuer sich knotenartig zu verstaerken (schon in Fig. 24 angedeutet), bis die Verdickungen sich beruehren, eine Platte bildend, die aber noch nicht die neue Zellmembranen bildet, denn diese stossen ober- und unterhalb dieser Stelle an die Stemmfasern (Fig. 54). Beide Zellen entfernen sich nun voneinander, wobei der Zylinder der Stemmfasern teilweise aus ihnen heraustritt, sich in der Verstaerkungsplatte einschnuert und erst spaeter, wenn diese Einschnuerung sehr eng geworden ist, an dieser Stelle auseinander bricht. Hierdurch erhalten die beiden Tochterzellen ein birnenfoermiges Aussehen (Fig. 55). Die Verstaerkungsplatte dient allem Anschein nach zum Verschluss der Bruchstelle zwischen den beiden Zellen. Die Reste der Stemmfasern sind noch laengere Zeit als schwaecher werdende Verdichtung in den Tochterzellen zu erkennen. Mit der jetzt folgenden Abrundung und mit dem einsetzenden Wachstum der Zelle, bei dem sich die Zellen wider aneinander legen und in ihrer Form aneinander anpassen, verschwindet auch die als Narbe zu bezeichnende Teilungsstelle. Waehrend der Zellteilung verdichtet sich die Chromatinmasse stark, einen einzigen dichten Koerper bildend (Fig. 53), dann aber beginnt sie zu zerfallen (Fig. 54), sich im Kernraum zu verteilen, und zuerst Baender, dann Faeden und Koerner bildend. Der Kernraum tritt deutlicher gegen das Protoplasma hervor und umgibt sich mit der neuen Kernmembran. Die Mitochondrien werden ohne eine erkennbare Ordnung gleichmaessig auf die Tochterzellen verteilt.

Nach kurzer Ruhepause, waehrend dessen jedoch im Kern noch Veraenderungen vor sich gehen (Neubildung des achtwertigen Koerpers, Fig. 55) durchlaufen die beiden sekundaeren Spermiogonien dieselben Schritte einer Aequationsteilung wie oben fuer das primaere Spermiogonium beschrieben. Das Resultat ist eine Gruppe von vier Spermiogonien, entsprechend einer 2^2-Zyste, an deren Rand das apikale Syncytium bereits mit der Bildung einer gesonderten Wand beginnt. Nach dem naechsten Schritt der Vermehrungsteilungen bildet sich eine 2^3-Zyste mit 8 Zellen, die nach beendeter Telophase sich um einen Zentralpunkt lagern und sich derart aneinander anpassen, dass jede Zelle birnenfoermig wird. Die Spitzen sind dem Mittelpunkt zugewendet (Fig. 19), so dass ein kugelfoermiger, achtzelliger Koerper gebildet wird, der im medianen Schnitt eine Rosette darstellt. In diesem Stadium sammeln sich die Mitochondrien in den zentral gelegenen Zellpolen und bilden hier eine dichte Masse, von der die Zellgrenzen verdeckt werden (Fig. 19, MC). Nach der naechsten Teilung, im 2^4-Stadium, ist die Rosettenform noch in etwa zu erkennen. Die zentralgerichtete Anhaeufung von Mitochondrien ist hier nicht mehr zu beobachten, sie liegen wie in dem primaeren Spermiogonium als kleine Koerper gleichmaessig verteilt im Protoplasma. Nach insgesamt acht Vermehrungsteilungen (Fig. 20-23) ist das 2^8-Stadium mit 256 Spermiogonien erreicht, die zu Spermiocyten heranwachsen und charakterristische Veraenderungen im Kern zeigen (s. unten).

Es sind hier Ergaenzungen ueber die Form und Bildung der Chromosomen anzufuegen, da allem Anschein nach die Bildung der Spermiogonien-Chromosomen im Prinzip sich von der der beiden Reifeteilungen unterscheidet. Nach dem Aufreten des Laengsspaltes in den Chromosomen (Fig. 41-43) beginnen sich die Abstaende zwischen den einzelnen optisch gut isolierbaren Koernern auf den beiden Lininfaeden zu verringern, bis die Chromatinteile auf beiden Faeden mitteinander verschmelzen, so dass das Bild der Fig. 47 a-c entsteht. Hierbei entsprechen 1 und 1' den beiden Chromosomenhaelften und die helle Mittelzone der Spaltebene. Durch weiter Verkuerzung in Richtung der Laengsachse (Fig. 47 d-g) ballt sich die Chromatinmasse zu zwei Koerpern zusammen (Fig. 47 a), die durch eine helle Mittelzone verbunden sind, die von einzelnen Lininfaeden durchzogen wird. Letztere duerften den Querverbindungen zwischen den homologen Koernern der Fig. 41-43 entsprechen. Dieser Vorgang ist in Fig. 56 schematisch erlaeutert.

Waehrend der achten Spermiogonienteilung ist der Durchmesser der Aequatorialplatte der Metaphase des Spermiogoniums der 2^7-Zyste mit 128 Zellen (von 9,5 μ im primaeren Spermiogonium) auf nur noch 3,5 μ zurueck gegangen (Tabelle 1 u. Fig. 29). Nach dieser Teilung, aus der das 2^8-Stadium mit 256 Spermiocyten je Zyste hervorgeht, erfolgt vorerst keine weitere Teilung, sondern die Zelle und ihr Kern treten in ein lang andauerndes Wachstumsstadium ein, waehrend dessen der Kerndurchmesser sich verdoppelt; dieser Vorgang ist in Fig. 28 dargestellt. In dieser Zeit erleidet das Kerninnere charakteristische Veraenderungen, wodurch die Chromosomen auf die spaeter erfogende neunte Teilung vorbereitet werden.

b) *Spermiocyten.*

Nach der achten Spermiogonienteilung tritt der Zellkern nicht in ein Ruhestadium ein, sondern beginnt mit der Vorbereitungssphase fuer die erste Reifeteilung. Die Triatominen, wie die meisten Heteropteren, stellen kein guenstiges Objekt fuer das Studium der Reifungsvorgaenge dar, da einerseits die Kerne relativ klein und die Chromosomen mehr oder weniger gleichgestaltet sind, und da andererseits die Beobachtungsreihe durch die totale Verklumpung der chromatischen Masse zum 'synaptischen Knaeuel" gerade am interessantesten und entscheidensten Punkt unterbrochen wird. Bei *Triatoma infestans* liegen die Verhaeltnisse etwas guenstiger, da drei Chromosomenpaare (A, B u. C) sich durch ihre Groesse und ihr heteropycnotisches Verhalten von den uebrigen Chromosomen deutlich unterscheiden; sie treten jedoch auch in die Bildung des synaptischen Knaeuels ein.

Der Verlauf der einzelnen Stufen der Vorbereitungssphase fuer die 9. und 10. Teilung, in denen der diploide Chromosomensatz von 22 auf den haploiden von 11 Chromosomen reduziert wird, entspricht in grossen Zuegen den von Wilson (1912) fuer *Oncopeltus fasciatus* (*Lygaeidae*) angegebenen Befunden. Dieser Autor teilt den Zwischenraum zwischen der 8. und 9. Teilung in 10 Stufen ein, die in 4 Gruppen zusammen gefasst werden koennen. Da wir in der Darstellung der Vorbereitung der Spermiocyten auf die beiden Reifungsteilungen bei *Triatoma infestans* den von Wilson angebenen Schritten folgen koennen, fasse ich im folgenden die Darlegungen Wilsons kurz zusammen:

1. *Praesynaptische Phase* mit nur sehr geringem Wachstum im Anschluss an die 8. Telophase:
   - *a*) *grobes Netzwerk* des Chromatins ohne Chromosomengrenzen,
   - *b*) Bildung der diploiden Anzahl von *dichten Chromatinkoerpern,* deutlich aus Koernchen aufgebaut,
   - *c*) jeder Koerper entrollt sich zu einem *Leptotaenfaden,*
   - *d*) die Leptotaenfaeden strecken sich zu *Spiremfaeden,* die sich verknaeulen.

2. *Kontraktionsstadium*:
   - *e*) *dichter Chromatinknaeuel* (synaptischer Knaeuel), waehrend dieser Periode Nucleination und Konjugation (Syndese) der Autosomen (Pseudoreduktion) (entspricht dem Diplotaen und Pachytaen — Bukettstadium — der Orthopteren),
   - *f*) *Auflockerung des Knaeuels,* es erscheint die haploide Anzahl von Chromatinfaeden (bivalente Pachitaenfaeden), Beginn des starken Wachstums,

3. *Periode der diffusen Chromosomen*:
   - *g*) *Aufloesung* der haploiden Anzahl *der Autosomen* in Koernchenreihen auf Lininfaeden mit einzelnen Knoten, Fortsetzung des Wachstums,
4. *Prophase der ersten Reifeteilung* (Meiose):
   - *h*) das Plasmosom loest sich auf, erneute Nucleination, *Verdichtung der Autosomen,* Ende des starken Wachstums,
   - *i*) *Tetradenbildung,*
   - *j*) Verdichtung der Tetraden zu *bivalenten Chromosomen,*
5. *Metaphase der ersten Reifungsteilung.*

Da sich die Heterochromosomen von *Triatoma infestans* anders als in dem von Wilson fuer *Oncopeltus fasciatus* engegebenen Schema verhalten, sind in der obigen Uebersicht die Heterochromosomen nicht beruecksichtigt worden. Diesen 10 Schritten der Vorbereitungsphase fuer die Reifeteilungen folgend gebe ich die bei *Triatoma infestans* gefundenen Verhaeltnisse wieder:

Stadium a:

Das Chromatin der aus der 8. Spermiogonienteilung hervorgegangenen jungen Spermiocyte verteilt sich nun nicht im neugebildeten Kern in Form des bekannten "Ruhekerns" einer Zelle, sondern bildet das Stadium a: von der zentralen Chromatinmasse (Fig. 55) loest sich der groesste Teil in kleineren oder groesseren Koernern ab und verteilt sich auf nur ganz schwach faerbbare Lininfaeden gleichmaessig ueber den ganzen Kerninhalt (Fig. 57 u. 58). Der Rest der Chromatinmasse stellt einen kompakten Koerper dar, der waehrend dieses Stadiums des groben Netzwerkes erhalten bleibt (Fig. 58). Ob dieser heteropycnotische Koerper dem achtwertigen Koerper der Spermiogonien entspricht, ist fraglich, denn es konnte in einer 2^8-Zyste nie die Bildung des achtwertigen Koerpers beobachtet werden, wie in den vorhengehenden Teilungen (etwa in der 2^5-Zyste der Fig. 55).

Stadium b:

Die Koernerreihen des groben Netzwerkes beginnen jetzt sich an gewissen Stellen des Lininnetzes zu konzentrieren und dichte Chromatinkoerper zu bilden, deren Aufbau aus kleinen Partikeln immer gut erkennbar beibt, da ihre Umrisse unregelmaessig sind und die Faerbung immer etwas ins graeuliche spielt, damit anzeigend, dass diese Koerper Konglomerate darstellen. Beim Uebergang in diese als Stadium b zu bezeichnende Periode der groben Chromatinkoerper verschwindet die heteropycnotische Masse, von der nur zwei kleine ovale Koerper uebrig bleiben, die einen scharfen Umriss zeigen und tief schwarz gefaerbt bleiben; es handelt sich offensichtlich um die beiden heteropycnotischen Heterochromosomen, die immer isoliert liegen und weder mit sich noch mit dem Netzwerk, auf dem die groben Chromatinkoerper liegen durch Lininbruecken verbunden erscheinen (Fig. 59 u. 60). Im weiteren Verlauf dieses Stadiums vergroessern sich die Chromatinkoerper ,und werden hierbei lockerer und noch weniger stark faerbbar, waehrend die beiden heterochromosomatischen Koerper ihre Form und Faerbbarkeit beibehalten.

Stadium c:

Aus jedem der groben Chromatinkoerper geht ein zarter, sehr feinkoerniger, schwach gewundener Faden hervor (Fig. 61 u. 62). Dieser Vorgang selbst ist hier nur andeutungsweise zu beobachten, jedenfalls nicht so deutlich, wie er von WILSON in seinen entsprechenden Figuren dargestellt wird. Es ist aber relativ leicht festzustellen, dass die Zahl der Chromatinkoerper sich auf 20 belaeuft und mit der Zahl der Faeden dieses Stadiums uebereinstimmt. Die Faeden, die als Leptotaenfaeden zu bezeichnen sind, stehen unterreinander durch sehr duenne Lininbruecken, die keine Chromatinteile tragen, in Verbindung. Diese Feststellung bedeutet nicht, dass es sich um einen durchgehenden Faden aller Chromosomen handelt; das Vorhandensein der Lininfaeden ist waehrend der Spermiogenese allgemein festzustellen und duerfte nur ein Ausdruck der Permanenz des Liningeruestes sein. Die beiden Heterochromosomen liegen, in gleicher Form wie im vorigen Stadium, ausserhalb der sehr locker umeinander gewundenen Faeden (Fig. 62, XY).

Stadium d:

Die Faeden werden fuer eine kurze Zeit (selten mehr als 1 oder 2 benachbarte Zysten in einem Folikel) sehr duenn und zart, schwaecher als in Fig. 61 dargestellt. Dieses Stadium entspricht dem Spirem. Ob diese zarten Faeden durch Streckung oder zeitweise Denucleination zustande kommen, war histologisch nicht zu klaeren. Bald aber schon, gegen Ende dieses Stadiums, verdichten sich die Faeden kraeftig, verkuerzen sich dabei und konzentrieren sich mehr und mehr im Kernzentrum (Fig. 63 u. 64). Sie betitzen weiterhin deutliche Lininbruecken zwischen sich. Sie stellen noch eindeuting univalente Faeden dar, die aber mit steigender Kontraktion auf das naechste Stadium hindeuten. Die Heterochromosomen bleiben weiterhin erhalten.

Stadium e:

In diesem Stadium kontrahieren sich die Faeden weiter und verknaeulen sehr stark miteinander (Fig. 65). Die Lininbruecken sind noch deutlich zwischen den einzelnen Schleifen des noch lockeren Knaeuels sichtbar (Fig. 65 LB). Im zweiten Teil dieser Phase kontrahiert sich das gesamte Knaeuel sehr stark. Die Heterochromosomen treten heraus und liegen seitlich in der hellen chromatinfreien, peripheren Zone (Fig. 66 HZ). Lininbruecken lassen sich nicht mehr feststellen; nur undeutliche Strukturen machen sich durch unterschiedliche Faerbbarkeit im Knaeuel bemerkbar. Einzelheiten innerhalb dieses synaptischen Kontraktionsstadiums lassen sich in keinem Falle beobachten, so dass wir ueber die Vorgaenge innerhalb dieses Stadiums voellig im Unklaren bleiben. Es wurde versucht, durch Quetschpraeparate das Knaeuel zu sprengen, der Erfolg blieb jedoch immer negativ, da dass Material in undefinierbare Brocken zerfiel. Das Knaeuel bleibt laengere Zeit bestehen, denn es finden sich in jedem Follikel zahlreiche, benachbarte Zysten, die dieses Stadium zeigen.

Stadium f:

Das Bild wird wieder uebersichtlich, wenn in diesem Stadium das Knaeuel sich aufloest. Es erscheinen neuerdings wieder sehr kraeftig faerbbare Faeden, die aber nun deutliche Doppelfaeden darstellen (Fig. 67-70), auf denen feinere und groebere Chromatinkoernchen verteilt sind. Fuer die groesseren Koerner laesst sich festellen, dass sich auf den Faedenpaaren immer etwa gleichgrosse Koerner gegenueber liegen, die untereinander durch feine Lininbruecken verbunden sind und von denen seitliche Lininfaeden abgehen, die sich mit Koernern anderer Faeden verbinden (Fig. 70). Die Bildung der Doppelfaeden ist zweifellos das Resultat der Kontraktionsphase, in der die Syndese (Konjugation) der homologen Chromosomen stattfindet. Da das Knaeuel im Stadium "e" aber so dicht ist, koennen wir den Vorgang der Syndese nicht beobachten, so dass eine direkte Entscheidung ueber ihren Modus nicht moeglich ist. Dagegen koennen wir indirekt aus dem histologischen Bild der Doppelfaeden im Stadium f schliessen, dass eine Parasyndese vorliegt (Parallelkonjugation), denn die Bildung des sekunderen Laengsspaltes erfolgt erst sehr viel spaeter im Anfang der Diakinese (s.u.). Der vorliegende Doppelfaden kann also nur aus zwei parallel liegenden Chromosomen bestehen; der Spalt zwischen ihnen stellt damit den primaeren Laengsspalt (Syndesespalt) dar. Wenn man in diesem Stadium die vorhandenen Faeden zaehlt, erhaelt, man stets 7. Sie gehen, oft Schleifen andeutend, von einem kompakten Chromatinkoerper aus, der stets peripher gelegen ist (Fig. 67 u. 69, 5-W). Wie sich spaeter herausstellt, setzt er sich aus den drei grossen Autosomen A, B und C und aus den beiden Heterochomosomen zusammen, so dass wir nur 7 Autosomenfaeden im Pachytaen finden.

Stadium g:

Waehrend der kompakte Chromatinkoerper weiterhin seine mehr oder weniger variable Form beibehaelt (Fig. 71 b), strecken sich die doppelten Faeden im Anfang dieses Stadiums. Die paarweise sich gegenueberligenden Koerner naehern sich einander (Fig. 71 a u. c) und beginnen undeutlich zu werden; ebenfalls wird der Lininfaden verschwommen. Es erweckt den Eindruck, als ob die Chromatinfaeden verquellen, doch erscheinen die Bezirke der einzelnen Faeden weiterhin erhalten zu bleiben (Fig. 72 u. 73). In diesem Stadium durchlaeuft die Zelle und besonders der Kern ein schnelles Wachstum (vergleiche Fig. 72, 73 u. 74). Es liegt nahe, dieses Stadium der diffusen Chromosomen vom Blickpunkt der allgemeinen Histologie zu betrachten. Wir wissen, dass Regenerations- und Wachstumsvorgaenge des Protoplasmakoerpers einer Zelle durch Substanzen des Kerns reguliert werden. In Druesenzellen beginnt die Regeneration des Zellkoerpers nach der Sekretion gleichzeitig oder unmittelbar nach dem Ausstoss fluessiger Substanzen aus dem Kern. Hier im Stadium g ereignen sich im Protoplasma ebenfalls starke Veraenderungen, die zweifellos zelleigen sind, da in Nachbarzysten, die von derselben Testicolymphe umgeben sind, diese Vorgaenge nicht ablaufen. Die Quelle, die das Wachstum des Protoplasmas aktiviert, kann nur der Kern sein. Es liegt nahe, dass hierbei ein Kern, der den sogenannten "Ruhekern" in der Verteilung seines Chromatins nahe kommt, besser geeignet ist als ein Kern mit mehr oder weniger ausgebildeten Chromosomen, d.h. dessen Nucleinsaeuren zum groessten Teil in denselben gebunden sind. Wir wissen aber, dass ein "Ruhekern" absolut nicht in Ruhe liegt, sondern in Vorbereitung zur Ausschuettung der erwaehnten fluessigen Substanzen (wahrscheinlich Nucleinsaeuren und deren Derivate) sich befindet. Solcher Art liesse sich das Stadium der diffusen Chromosome als ein in die Prophase eingeschaltetes "Arbeitsstadium" deuten, bei dem das Chromatin weitgehend aufgelockert (denucleïert) wird.

Stadium h:

Nach Beedigung des Wachstums kehrt der Kern wieder in seine Vorbereitungsphase zur ersten Reifungsteilung zurueck. In diesem Stadium h (Diakinese) kontrahieren sich die verschwommenen Chromatinkoerner zuerst zu zahlreichen Anhaeufungen (Fig. 72), die dann zu 7 groesseren oder kleineren Ansammlungen zusammen fliessen (Fig. 73 u. 74). Der kompakte Chromatinkoerper bleibt vorerst weiter bestehen. Der Zusammenschluss der Chromatinkoerner zu den sieben Koerpern scheint laengs der Lininfaeden zu erfolgen, denn im Anfang dieses Stadiums (Fig. 72 u. 73) sieht man die Faeden in Verbindung mit den Koerneransammlungen.

Stadium i:

Die sieben unregelmaessigen Zusammenballungen der Autosomen beginnen nun die endgueltige Umwandlung zu den definitiven Chromosomen (Tetraden) der ersten Reifungsteilung. Der kompakte Koerper bleibt vorerst noch als solcher erhalten und beginnt nur sehr langsam sich aufzulockern (Fig. 75 a-d).

Die Bildung der definitiven Tetraden der sieben isolierten, nicht heteropygnotischen Chromosomen ist ein kontinuierlicher Vorgang, der bereits mit der Syndese beginnt, hier aber im Stadium i, der Diakinese im engeren Sinne, offensichtlicher wird. Die Chromatinmasse jedes Chromosoms, die im diffusen Stadium auf den Lininfaeden in Koernchenform fein verteilt war, hat sich im Stadium h konzentriert (Fig. 74). Die Verdichtung wird fortgesezt; ob es sich nun um eine Nucleination oder um einen reinen Entquellungsvorgang handelt, ist histologisch nicht zu entscheiden. Es waere eine interessante Aufgabe fuer mikrochemische Untersuchungen festzustellen, ob die Menge an Nucleinsaeuren waehrend dieser Verdichtung zunimmt oder die gleiche bleibt. Die Verdichtung erfolgt nun nicht gleichmaessig ueber den ganzen Chromatinkoerper sondern am Rand staerker, waehrend im Zentrum zuerst eine helle Zone erscheint (Fig. 76), die immer mehr aufhellt, bis sie voellig ohne Material erscheint, so dass sich ein unregelmaessig ringfoermiger Koerper ergibt (Fig. 77 u. 78), von dem seitlich strahlenfoermig die Lininfaeden abgehen (Fig. 77 Mitte). Der Ring ist nicht von gleichmaessiger Staerke, sondern zeigt — zuerst weniger (Fig. 76), spaeter sehr deutlich (Fig. 77 u. 78) — kornartige Verdikkungen. Immer sind die Verdickungen regelmaessig angeordent und paarweise gleichmaessig geformt; gleichgeformte Teile liegen auf Parallelen auf der Symetrieachse durch die Tetrade (Fig. 78 von A nach B), die wahrscheinlich dem Syndesespalt entsprechen duerfte, wenn wir eine Parasyndese als gegeben ansehen (s.o.). Da aber waehrend des diffusen Stadiums die nach dem Kontraktionsstadium parallel konjugierten Faeden nicht mehr als Doppelfaeden beobachtet werden koennen, ist die Identifizierung der genannten Symetrieachse als Syndesespalt nur unter ausdruecklichem Vorbehalt anzunehmen. Die gesamte Tetradenbildung und damit die Frage nach der Prae-oder Postreduktion wird im folgenden mit dieser Einschraenkung behandelt. Im Stadium der noch ringfoermigen Tetraden tritt ein weiterer Laengsspalt auf, der senkrecht auf dem ersten steht. Er ist somit nur an Tetraden sichtbar, die in diesem Stadium genau von der Seite gesehen werden koennen (Fig. 79, in Fig. 77 etwas schematisiert dargestellt). Dieser Befund spricht in starkem Maase fuer die Annahme der Parasyndese, doch bleibt es nur ein indirekter Beweis. Dieser sekundaere Laengsspalt ist nur sehr kurze Zeit ueber zu sehen, waehrend der mittleren Diakinese, ehe der kompakte Chromatinkoerper sich zu zerlegen beginnt (Fig. 77). Kurz darauf, mit den ersten Anzeichen der Aufloesung des genannten Koerpers, ruecken die Chromosomenhaelften so dicht zusammen, dass der Spalt verschwindet (Fig. 78). Gleichzeitig verringert sich der Durchmesser des Tetradenringes unter Verdickung seiner Koerner. Zumeist ist der Ring aus vier Doppelkoernern (Fig. 80 und 81 a), die durch fadenartige Stuecke verbunden sind, aufgebaut.

Stadium k:

Im letzten Stadium vereinigen sich die Doppelkoerner zu vier groesseren Koernern, die naeher zusammen ruecken (Fig. 80 b, 81 b). Anschliessend erfolgt eine Verkuerzung in Richtung der Symmetrieebene, d.h. dem Syndesespalt und die Koerner strecken sich (Fig. 80 c und 81 c, d) und legen sich eng aneinander. Die Verkuerzung greift danach auch auf den Syndesespalt ueber, so dass die Form der Fig. 80 e und 81 e zustande kommt. Stark schematisiert ist dieser Vorgang in Fig. 82 dargestellt, woraus hervorgeht, dass lediglich die Verkuerzung der Symmetrieachse genuegt, um eine Aufwoelbung der Mitte der Chromatiden hervorzurufen, um zu der Endform zu gelangen. Waehrend dieser Vorgaenge, beginnend mit der Kontraktion der Chromatinmassen in der fruehen Diakinese, liegen die Chromosomen peripher an der Kernwand.

In derselben Lage findet man den kompakten Chromatinkoerper, nur dass er wegen seiner Groesse tief in das Kernlumen hineinreicht. Er bildet sich im synaptischen Knaeuel, bleibt waehrend des Diplotaens und Pachytaens mit scharfen Umrissen unveraendert erhalten (Fig. 67, 69 und 71). Im Stadium der diffusen Chromosomen wird seine Begrenzung etwas verschwommen (Fig. 72). Zu Anfang der Diakinese bleibt er, neuerdings mit scharfem Umriss, kompakt. In der zweiten Haelfte der Diakinese, wenn die 7 isolierten Autosomen bereits in das Ringstadium eingetreten sind (Fig. 77), beginnt er sich in drei Teile zu zerklueften (Fig. 76). Die immer noch zusammenhaengenden Teilstuecke (Fig. 83) zeigen dieselben Erscheinungen wie die 7 Autosomen: Das Zentrum eines jeden Teilstueckes hellt sich auf, bis drei Ringe aus 4 Doppelkoernern gebildet sind, die aber durch anfangs breite (Fig. 83), spaeter sich verschmaelernde lininartige Bruecken verbunden bleiben. Dieser Vorgang ist in Figur 75 a-k, aus verschiedenen Zysten eines Follikels, dargestellt. Die Bruecken verschmaelern sich weiter, bis nur noch ein duenner Lininfaden uebrig bleibt, der aber schon in frueheren Stadien angedeutet ist (Fig. 75 g-i). Die drei Teilstuecke, jetzt als die drei noch fehlenden grossen Autosomen erkennbar, durchlaufen die Umbildung zu den endgueltigen Metaphasechromosomen schneller als die 7 uebrigen Chromosomen, so dass bei der anschliessenden Bildung der Aequatorialplatte alle 10 Autosomen im gleichen Ausbildungsstadium angekommen sind. Bei der Bewegung zur Bildung der Platte ist keine Heterokinese der drei grossen Chromosomen zu erkennen.

Ein ganz eigenartiges Verhalten zeigen die zwei Heterochromosomen, worauf Schreiber und Pellegrino bereits hinweisen: Wenn der kompakte Chromatinkoerper mit seiner Aufloesung beginnt, findet man in dem Stadium der breiten Lininbruecken (Fig. 75 i und l und Fig. 83, in Fig. 75 k und h durch Ueberlagerung unsicher) einen groesseren und einen kleineren Chromatinkoerper, die ausserhalb der drei Ringe in die Verbindungsbruecken eingebettet sind. Bei der folgenden Verschmaelerung der Bruecken zum Lininfaden werden diese beiden Koerper isoliert (Fig 75 l) und wandern als die Heterochromosomen in das Zentrum der Aequatorialplatte ein. Beide, ueblicherweise als X und Y bezeichnet, zeigen nicht die Transformationen in Tetraden, sondern bilden je einen runden Koerper, bei dem auch der Laengsspalt nicht sichtbar ist. Da sie jedoch spaeter in der Anaphase der folgenden Teilung in gleiche Stuecke getrennt werden, muessen wir sie als Dyaden betrachten, die aus der Syndese von je zwei gleichgestalteten Spermiogonien-Chromosomen entstanden sind.

Mit der Ausbildung der 12 Chromosomen ist die Prophase beendet. Die jetzt folgende Bildung der Aequatorialplatte erfolgt ueberaus schnell, da die Uebergangsstadien nur sehr selten im Schnitt gefunden werden. Die ausgebildeten, schon stark verdichteten Chromosomen legen sich, einschliesslich der drei Macrochromosomen und der Heterochromosomen, an die Kernwandung an. Kurz vor Erreichen der endgueltigen Kondensation der Chromosomen erscheinen an zwei sich gegenueberliegenden Seiten die beiden Centriole, die bisher nicht sichtbar waren. Fast gleichzeitig verschwindet die Kernmembran, und die Chromosomen nehmen Verbindung mit den ebenfalls jetzt ploetzlich entstehenden Polstrahlen der Centriolen auf. Eine Spindel von oben gesehen ist in Fig. 94 dargestellt. Zur selben Zeit legen sich die Chromosomen in eine Ebene, auf der die Achse der Spindel senkrecht steht. Alle diese Vorgaenge laufen so schnell ab, dass eine zeitlich geordnete Reihenfolge der Ablaeufe nicht zu erkennen war. Dieser ganze Ordnungs- und Bewegungskomplex scheint sich explosionartig ploetzlich zu ereignen. Mit dem Eintritt in die Aequatorialebene scheint ein gewisser Stillstand einzutreten: Die Chromosomen liegen wahllos nebeneinander (Fig. 84); doch beginnen sie sich langsam in eine gewisse Ordnung zu bringen, die typisch fuer die Reifeteilungen ist: Die Autosomen bilden einen Ring in der Aequatorialebene, in deren Mitte die beiden Heterochromosomen liegen (Fig. 85-87). Die letzteren liegen nur ausnahmsweise in der Ebene, fast regelmaessig liegt das kleinere Y unter dem groesseren X (beim Aufblick), zumeist etwas seitlich verschoben, oft aber auch senkrecht unter X, so dass nur 11 Chromosomen in der Aequatorialebene vorgetaeuscht werden. Die Reihenfolge der 10 Autosomen im Ring ist variabel.

In der Seitenansicht erscheinen die Autosomen als kurze, oben abgerundete Saeulchen (Fig. 88-90), waehrend sie in der Aufsicht oval sind. In ihrem Aequator findet sich die helle Guertelzone, die — unter den oben erwaehnten Vorbehalten — dem Syndesespalt entspricht. Dieser Spalt kann in den Heterochromosomen nicht nachgewiesen werden (Fig. 84 und 91). Nach starker Differenzierung erscheint in der Seitenanssicht (Fig. 91) ein zur Guertelzone senkrecht stehender Spalt, der dem in Figur 82 gekennzeichneten Raum entspricht, der bei der Aufwoelbung der beiden Chromosomen waehrend der Tetradenbildung entsteht. In der Aufsicht, ebenfalls nach sehr starker Differenzierung, laesst sich eine helle Zone inmitten der Chromosomen erkennen, besonders in solchen, die gerade in die Aequatorialebene eingetreten sind (Fig. 84). Diese Zone duerfte dem sekundaeren Spalt, d.h. dem Aequationsspalt entsprechen, der in Figur 77 und 79 fuer die Tetraden dargestellt wurde.

Bei sehr schwacher Differenzierung sind die Chromosomen der Metaphasenplatte, wie es fuer die Metaphase der Spermiogonien beschrieben wurde, unter einander durch schwach faerbbare Lininfaeden verbunden. In der Seitenansicht lassen sich die Chromosome in etwa in einer Reihenfolge, bezogen auf ihre Groesse, darstellen, doch kann das nur in Gruppen geschehen (Fig. 90): 3 grosse Autosomen (A, B und C), 2 mittlere Autosome (D und E), 5 kleine Autosome (F-K) und 2 Heterochromosome (X und Y).

Die Autosome der Aequatorialplatte sind an beiden Enden durch je zwei Zugfasern mit dem Spindelpolzentrum verbunden (Fig. 88, 89 und 92). Da wir die helle Guertelzone der Autosome als Syndesespalt angenommen haben, ist die Anheftung der Spindelfasern median. Es war nicht moeglich festzustellen — doch laesst es sich vermuten —, dass die Fasern an je eines der durch den sekundaeren Laengsspalt entstandenen Teilstuecke einer Tetradenhaelfte sich anheften. Die Heterochromosome stehen je Ende mit nur einer Faser in Verbindung. Bei Eintritt in die Anaphase teilen sich die beiden Heterochromosome zuerst (Fig. 88 und 89) durch Querteilung. Eine vorbestimmte Stelle war mit keiner Differenzierung zu erkennen. Mit geringer Zeitdifferenz danach teilen sich auch die Tetraden in der Guertelzone (Fig. 92) und weichen zu den Spindelpolen hin ausenander. Dabei bleiben die beiden Haelften jedes Chromosoms durch eine Faser weiterhin in Verbindung. Die Bilder der Anaphase erwecken den Eindruck, dass die Trennung mit einer gewissen ziehenden Kraft vor sich geht, denn an den Fasern bleiben Chromatinteile haften, als wenn man gewaltsam die Tetrade zerrissen haette (Fig. 92). Diese Teile wandern dem Dyadenkoerper langsam nach und treten am Ende der Anaphase wieder in ihn ein. Es erfolgt wieder eine Abrundung und gleichzeitig ein enges Aneinanderschliessen der Dyaden zu einem kompakten Koerper (Fig. 93 a). Jetzt beginnt auch der Zellkoerper sich in der ehemaligen Aequatorebene einzuschnueren und die neuen Zellen schliessen sich, wie es fuer die Spermiogonien schon beschrieben wurde. Damit ist auch die Telophase beendet. Die Haelften der Stemmfasern ziehen sich zusammen bilden einen mehr oder weniger runden, dichten Koerper in der Zelle, waehrend sich eine neue Kernmembran ausbildet.

Da durch die Teilung der Autosome im Syndesespalt die beiden konjugierten Partner getrennt werden, ist die erste Reifeteilung — immer allerdings unter unter dem oben erwaehnten Vorbehalt — als reduktional anzusehen. Anders verhalten sich die Heterochromosome, die nicht konjugierten und in dem Spalt getrennt wurden, der dem sekundaeren der Autosome entspricht; ihre Teilung ist damit aequational.

c) *Praespermiden.*

Nach der ersten Telophase zerfaellt der kompakte Chromatinkoerper, zu dem die Chromosomen zusammengeflossen sind (Fig. 93 a), in undeutlich umgrenzte Chromatinbrocken, die sich peripher lagern und in der Anzahl der haploiden Chromosomen vorhanden sind. Die Spindelreste bleiben erhalten und verkuerzen sich langsam. Das Centriol teilt sich und seine beiden Teilstuecke wandern um 90° nach links und rechts auseinander auf sich gegenueberliegende Pole des Kerns; es scheint so, als ob sie sich durch gleiche statische Ladung voneinander abstossen (Fig. 95 und 96). Gleichzeitig dreht sich der Kern um 90°, wodurch er immer in eine excentrische Lage innerhalb der Zelle geraet. Ob diese Kerntorsion nun ein kerneigener, kinetischer Vorgang ist oder evtl. durch die Verkuerzung der Spindelrestes zustande kommt, ist voellig unklar. Waehrend sich der Spindelrest nun weiterhin verkuerzt und zu einer unscharf begrenzten, kugelfoermigen Plasmaverdichtung wird, die sich langsam aufloest, kondensiert das Chromatin neuerdings und es bilden sich auf direktem Wege die Chromosomen der zweiten Reifungsteilung. Diese bieten von der Seite gesehen denselben Anblick wie die der ersten Teilung, nur dass hier jetzt die allgemeine Groesse wesentlich kleiner geworden ist (Fig. 97). Die Guertelzone und der senkrechte Streifen sind wie in der ersten Aequatorialplatte ausgebildet. So ist es oft nicht einfach, die Platten der beiden Teilungen von einander zu trennen. Das ist jedoch leicht beim Aufblick moeglich: Waehrend die Autosomen, besonders gut sichtbar an den grossen A, B und C, in der Platte der ersten Reifungsteilung einen deutlich ovalen Querschnitt zeigen, der eine helle Achsenzone besitzt, stellen sich die der zweiten Aequatorialplatte voellig rund dar und besitzen die helle Zentralzone in keinem Falle (Fig. 97 und 99). Sie gleichen somit im Aufblick den Heterochromosomen der ersten Teilung. Bei schwacher Differenzierung erscheinen, wie es auch in der erten Aequatorialplatte gefunden wird, im Aufblick wie in der Seitenansicht duenne Lininfaeden zwischen den Chromosomen. Die Faeden koennen beim Aufblick evtl. durch die in die Aequatorebene projizierten Spindelfasern vorgetaeuscht werden. Die Aequatorialplatte zeigt denselben Aufbau wie die der ersten Teilung, nur dass alle Masse kleiner sind. X und Y liegen in der Mitte uebereinander (Fig. 100) und werden vom Kranz der 10 Autosomen umgeben. Auch hier, wie bei der Bildung der ersten Aequatorialplatte treten Ausnahmen auf, indem ein oder zwei Chromosomen mit in den Kreis eintreten (Fig. 98 a). X und Y liegen in der Regel ober- und unterhalb der Aequatorebene (Fig. 100). Alle Autosome stehen jetzt mit nur je einer Spindelfaser mit den Centriolzonen in Verbindung; die Heterochromosomen sind dagegen mit jeweils nur einer Faser an einen Pol gebunden, X an den einen, Y an den anderen Fig. 100).

Mit Beginn der Anaphase teilen sich die Autosomen in der Guertelzone und die Haelften ziehen sich schnell zu den Polen. X und Y teilen sich nicht und wandern langsamer jeder zu einem der beiden Pole (Fig. 101 und 102). Diese Heterokinese der Heterochromosomen wurde nur in der zweiten, nie in der ersten Reifungsteilung beobachtet. In diesem Stadium findet sich, zumeist annaehernd in der Aequatorialebene, ein kleiner runder, scharf begrenzter Koerper (Fig. 101 und 102), der aber auch in frueheren Stadien schon auftritt, jedoch weniger kraeftig als in der beschriebenen Anaphase. Seine Bedeutung ist unbekannt. In der Telophase haben sich alle Chromosomen zu einem dichten Chromatinkoerper zusammengeschlossen (Fig. 103) und die Teilung des Zellkoerpers vollzieht sich wie oben fuer die Spermiogonien bereits beschrieben. Die Anzahl der Chromosomen belauft sich jetzt endgueltig auf 11 (10 Autosome und 1 Heterochromosom).

Die jetzt entstandenen Spermiden (Fig. 104, 105 und 106) bilden wieder waehrend des Zerfalls des Chromatinkonglomerats die Kernmembran aus (Fig. 107 und 108). Die mehr oder weniger gleichfoermigen Chromatinteile sind immer in der haploiden Chromosomenzahl mit 11 vorhanden: waehrend die 10 Autosomen aber mehr und mehr unscharfe Umrisse zeigen, bleibt das jeweilige Heterochromosom in seiner urspruenglichen Form und scharf begrenzt erhalten. Hiermit sind die Reifeteilungen beendet und die Spermide tritt in die Spermiohistogenese ein, an deren Ende das fertige Spermium entstanden ist.

Waehrend der Prophase beider Reifungsteilungen liegt der Golgi-Apparat, zu einem weitmaschigen Netz aufgelockert, gleichmaessig auf eine Schalenflaeche verteilt, die in geringem Abstand den Kern umgibt (Fig. 109 und 110). Die beste Methode, den Apparat sichtbar zu machen, war eine Fixation mit O_sO_4 (0,5% in 1% iger Chromsaeure) mit Zusatz von 10 cm^3 Sublimat (gesaettigte waessrige Loesung) zu 100 cm^3 der Saeure. Eine nachfolgende Faerbung mit Eisenhaematoxylin aendert nichts mehr an der Toenung des Golgi-Apparates, waehrend hierdurch die Mitochondrien schwarz gefaerbt werden und die Sichtbarkeit des Apparates erschweren. Mit Eintritt in die Metaphase zieht sich der Apparat ringartig in der Aequatorialebene zusammen (Fig. 111, GA). Hier erfolgt eine Teilung, deren Vorgang nicht beobachtet werden konnte, doch finden sich in der Anaphase (Fig. 112, GA) in Hoehe der Chromosomenkonglomerate je eine Konzentration der Golgi-Substanz in annaehernd gleicher Groesse. Dasselbe gilt fuer die Telophase (Fig. 113, GA).

Die Mitochondrien, die waehrend der vorbereitenden Schritte vor der Prophase gleichmaessig in Form von Koernchen ueber das Protoplasma verteilt waren, sammeln sich waehrend der Diakinese innerhalb und ausserhalb der Schale des Golgi-Apparates (Fig. 109, linke Haelfte, MI). In der Metaphase liegen sie allseits auf der Spindel, haeufen sich aber an den Polen in wechselnden Masse (Fig. 111, MI). Waehrend der Anaphase und Telophase konzentrieren sie sich mehr und mehr an den Spindelpolen (Fig. 112 und 113), doch scheint die Teilung der Mitochondrienmassen nicht mit derselben Exaktheit zu geschehen, wie es fuer die Chromosomen typisch ist (Fig. 103).

Auf die genaue Verteilung der verschiedenen Entwicklunsstadien in Bezug auf die Gesamtlaenge des Follikels wird im zweiten Teil dieser Arbeit (ueber die Spermiohistogenese) eingegangen werden.

Von besonderem Interesse ist die Bildung der Metaphasen-Chromosomen der Praespermiden. Es wurde festgestellt, dass die Autosomen waehrend der ersten Reifeteilung im Syndesespalt reduktional getrennt werden (Fig. 92). Zu jedem Centriol bewegen sich die Dyaden, die aus der Laengsspaltung je eines Chromosoms entstanden sind. Loesen wir die grosse Tetrade A in 2a und 2b auf, so finden wir in der Telophase an einem Centriol die Dyade 2a und am anderen 2b. Jede Dyade — entsprechend dem unter Vorhalt der Parasyndese gezeichneten Schema der Figur 82 — besteht aus zwei hufeisenfoermig gebogenen und eng aneinanderliegenden Chromatiden, von denen je eine durch eine Faser mit dem Centriol in Verbindung steht. Diese Verbindung wird bei Bildung der neuen Kermembran nach der ersten Telophase unterbrochen. Aus dieser Form, sagen wir "Parallel-Dyade", kann die endgueltige Form nur auf zwei Wegen entstehen: Wir wiederhohlen, dass die Metaphasen-Dyade aus zwei hufeisenfoermig gebogenen Chromatiden besteht, die mit ihren Enden paarweise aneinanderhaengen, wobei ein Bogen nach oben, der andere nach unten gewandt ist. Um zu dieser Form zu gelangen muessen wir im ersten Fall der beiden Moeglicheiten eine Drehung der Chromatiden in der Horizontalen um je 90° annehmen. Dabei muessen sich die Enden von einander loesen. Im zweiten Fall gelangen wir durch eine Kippbewegung jeder Chromatide um 90° zu der Endform, wenn wir als Drehachse die Verbindungslinie zwischen den beiden Chromatidenenden annehmen. Hierbei bleiben die Enden aneinander geheftet. Diese letztere Moeglichkeit erscheint als die wahrscheinlichere, besonders da sich einige Bilder in den Interphasenkernen zeigen, die auf die Kippbewegung hindeuten, jedoch sind diese Befunde nicht regelmaessig genug, um einwandfrei diese Annahme zu erhaerten. Die Wahrscheinlichkeit dieses zweiten Weges wird noch groesser, wenn wir als Energie fuer diesen Bewegungsvorgang die statische Ladung der Chromatiden in Betracht ziehen: Alle 4 Chromatiden sind mit derselben statischen Elektrizitaetsmenge versehen. In der Tetrade liegen sich je 2 und 2 Einheiten im Gleichgewicht gegenueber. Nach der Teilung im Syndesespalt liegen in jeder Dyade je 2 gleichgeladene Chromatiden parallel zu einander. Entsprechend den sich abstossenden gleichen Energieeinheiten kommen wir zu einer Kippbewegung um die durch die Chromatidenenden gehende Achse. Diese theoretischen Eroerterungen sind nicht durch ausreichenden Beobachtungen belegt.

5. ZUSAMMENFASSUNG.

Es wird der anatomische und histologische Aufbau des Hodens von *Triatoma infestans* geschildert. Von der Spermiogenese wird nur ein Teil, beginnend mit den Spermiogonien bis zur fertigen Spermatide gegeben (Spermiocytogenese). Die Spermiohistogenese wie das *vas deferens* und die Anhangsdruesen werden in der in Vorbereitung befindlichen Fortsetzung dieser Arbeit demnaechst behandelt.

Der Hoden von *Triatoma infestans* besitzt 7 Follikel, von denen jeder in ein eigenes sehr kures *vas efferens* muendet; letztere oeffnen sich in ein gemeinsames *vas efferens*. Am Eingang vom Follikel in das *vas efferens* findet sich immer ein Lager von nekrotischen Gewebsmassen, hervorgegangen aus den sich aufloesenden Zystenwaenden. Die dadurch befreiten Spermienbuendel durchlaufen das *vas efferens* und treten in das *vas deferens* ein. Der durch die Nekrose entstandene Gewebssaft, wird vom Epithel des *vas efferens* wieder aufgenommen und der Haemolymphe wieder zugefuehrt; das Epithel besitzt ein sehr hohes Rhadorium.

Der apikale Teil des Inhalts eines jeden Follikels ordnet sich um eine grosse Apikalzelle, der als Hauptfunktion eine regulierende Taetigkeit in Bezug auf die Differenzierung der Zellen des Keimlagers in primaere Spermiogonien und Zystenwandkerne zugeschrieben wird.

Es finden sich 8 Vermehrungsteilungen der Spermiogonien, so dass 256 Spermiocyten entstehen und nach den zwei Reifungsteilungen 1 024 Spermiden. Es wird der Ablauf der Prophase und der beiden Reifungsteilungen geschildert. Es muss Parallelsyndese angenommen werden.

Aus der Tetradenbildung ergibt sich, dass die erste Reifungsteilung reduktional, die zweite aequational ist, also Praereduktion vorliegt.

Triatoma infestans besitzt im Spermiogonium 22 Chromosomen, davon sind 2 Heterochromosomen, das groessere X, das kleinere Y, da bei Vergleichsbeobahtungen in Oogonien das groessere nicht, das kleinere aber in doppelter Anzahl gefunden wird.

Die Autosomen des reduzierten Satzes der ersten und zweiten Reifungsteilung koennen ihrer in drei Gruppen aufgeteilt werden: 3 grosse (A, B und C), 2 grosse nach mittlere (D und E) und fuent kleine (F, G, H, I und K). Von diesen verhalten sich A, B und C in enger Verbindung mit den Heterochromosomen heteropycnotisch, in dem sie sowohl in den Spermiogonien wie auch in den Spermiocyten nach der Synapsis einen achtbzw. fuenfwertigen Koerper bilden, der stark kondensiert bleibt, wenn auch die anderen Autosomen sich individualisieren und verquelen (diffuse Chromosomen). Das Stadium der diffusen Chromosomen wird als Arbeitsphase wahrend des starken Wachstums der Spermiocyten gedeutet.

6. BIBLIOGRAPHIE (Siehe am Schluss des portugiesischen Teils).

7. ABKUERZUNGEN IN DEN FIGUREN.

A	1. Macrochromosom
AH	aeussere Hodenkapsel
AL	Autosomen in Laengsspaltung
APZ	Apikalzelle
B	2. Macrochromosom
C	3. Macrochromosom
CAP	Copulationsapparat
CRR	Chromatinreste
Cyst	Cysten
D	mittelgrosses Chromosom
DG	*ductus glandularum*
Div.	Teilungen
E	mittelgrosses Chromosom
EF	Endfaden
EVD	Epithel des *vas deferens*
EVE	Epithel des *vas efferens*
F	kleines Chromosom
FE	Follikelepithel
FO	Follikel
FT	Fettkugeln
G	kleines Chromosom
GA	Golgiapparat
H	kleines Chromosom
h	hohe Fokalebene
HI	Hilus
HL	Haemolymphe

HZ	helle Randzone
I	kleines Chromosom
IH	innere Hodenkapsel
K	kleines Chromosom
KL	Keimlager
LB	Lininbruecken
M_{1-4}	erste bis vierte akzessorische Druese
m	mittlere Fokalebene
MC	Mitochondrien
MP	*membrana própria*
MT	Hodenmembran
N_1	Kern des Hodenepithels
N_2	Kern des trachealen Pseudoepithels
N_3	Kern einer Haemocyte im Pseudoepithel
NFE	Kern des Follikelepithels
NH	Kern der Amoebocyten
NK	Region der Nekrose
NL	Kernwasser
NN	ruppe von zukuenftigen Zystenwandkernen
NNK	Zystenwandkerne in Nekrose
PAS	Plasma des apikalen Syncytiums
PS	primaeres Spermiogonium
PSA	primaeres Spermiogonium in Anaphase
PSP	Praespermiden
QFA	Chromatinfaden im Querschnitt
RH	Rhabdorium
RMU	Ringmuskel
SBB	Spermienbuendel
SCH	Chromatinschleifen
SPE	Spermien
SPI	Spermiden
SPO	Spermiogonien
SPY	Spermiocyten
t	tiefe Fokalebene
TE	Hoden
TR	Tracheen
VA	Vakuolen
VD	*vas deferens*
VE	*vas efferens*
VS	*vesicula seminalis*
X	grosses Heterochromosom
Y	kleines Heterochromosom
ZW	Zystenwand
ZWK	Kerne der Zystenwand
ZY	Zyste
ZYI	isolierte Zyste
ZYR	Anhaeufung von Resten von Zystenwaenden in langsamer Nekrose
1 und 1'	Chromosomenhaelften

1 — 7	1. — 7. Follikel
2^2-R	2^2-Rosette
2^3-R	2^3-Rosette
2^7-ZY	2^7-Zyste
5-W	fuenfwertiger Koerper
8-W	achtwertiger Koerper
IIa — VIIa	2. — 7. Abdominalsegment

(Die Fixierungen der Praeparate werden in den Legenden der Figuren jeweils; die Faerbungen sind, wenn nicht anders vermerkt, mit Einsenhaematoxylin nach Heidenhain durchgefuehrt worden.)

8. ERKLÄRUNG DER FIGUREN

TAFEL 1

Fig. 1. Rechte Seite des maennlichen Reproduktionsapparates in natuerlicher Lage, ventral geoeffnet. Die Pfeile geben den Verlauf der Schlingen des vas deferens an. Schwarz: ductus glandularum. Der kurze ductus ejaculatorius liegt innerhalb des Copulationsapparates (CAP). 10:1.

Fig. 9. Laengsschnitt durch den Apikalteil eines Follikels. In der rechten Haelfte Hoden- und Follikelwand durch den Schnitt zerrissen, dadurch die beiden Hodenkapselwaende bei zufaellig dillatiert. Helly. 3 000:1.

TAFEL 2

Fig. 2. Schematische Schnittserie durch die Region der Bildung des vas deferens. Punktierte Linie: Innenwand der Follikel; gestrichelte Linie: Epithel der vasa efferentia; ganzrandige Linie: Epithel des vas deferens. In a) hat das vas efferens des ersten Follikels bereits das vas deferens gebildet (1); (2) und (3) stellen die vasa efferentia der entsprechenden Follikel dar, waehrend der 4. bis 7. Follikel noch als solche erhalten sind. Von b) bis g) muendet ein Follikel nach dem anderen in das vas deferens, bis in i) das vas deferens definitiv ausgebildet ist. Gilson.

TAFEL 3

Fig. 3. Der dem Schema in Figur 2 c) entsprechende Schnitt. Nummerierung der einzelnen Elemente wie in Figur 2. In Follikel 5, 6 und 7 finden sich reife Spermienbuendel; in vas deferens (1 + 2) Spermien. Gilson.

Fig. 4. Ein dem Schema in Figur 2 h) etwa entsprechender Schnitt. Gilson.

Fig. 6. Querschnitt durch die vier Mesadenien (MI — MIV) etwas ueber dem Hilus, der sich bei X bildet; vesicula seminalis ebenfalls sichbar. Gilson.

Fig. 7. Querschnitt durch den ductus glandularum dicht unterhalb des Hilus. Gilson.

Fig. 8. Querschnitt dur den ductus glandularum unterhalb der Vereinigung der vier Einzelgaenge zum gemeinsamen Gang. (Gilson).

TAFEL 4

Fig. 10. Laengsschnitt wie in Figur 9. Zentral die Apikalzelle, umgeben von Rosetten mit zentral gelegenen Mitochondrien (oberhalb der Apikalzelle), links Lager der Keimzellen, aussen Hondenkapsel. Helly.

Fig. 18. Ausschnitt aus einem Laengsschnitt durch einen Follikel mit Zysten verschiedenster Entwicúlungsstufen. Helly. 1 850:1.

Fig. 19b. Fotografie einer 2^4-Zyste in natuerlicher Lage (Schnitt); zentral gelegen die Mitochondrien. Gilson.

Fig. 26. Teil eines Laengschnittes durch einen Follikel mit Spermiogonienzysten und runden Zystenwandkernen. Helly.

TAFEL 5

Fig. 11. Blutraum zwischen zwei Zysten mit Fettkugeln. Osmiumsaeure mit Sublimat. 1 500:1.

Fig. 12. Amoebocyten aus Blutraum zwischen Spermienfollikel mit Mitochondrien. Helly. 3 000:1.

Fig. 13. wie Figur 12.

Fig. 14. wie Figur 12.

Fig. 15. Amoebocyten aus Blutraum zwischen Spermiogonienfollikel mit Mitochondrien. Da Fano. 1 850:1. Die Faeden sind vermutlich Teile des Golgiapparates.

Fig. 16. Schema des Follikelendes mit Kapselwand und Tracheen.

TAFEL 6

Fig. 17. Follikel- und Zystenwand (fast vollendete Spermienzyste). Helly. 1 400:1.

Fig. 19a. 2^3-Rosette in Hoehe der Apikalzelle mit zentraler Mitochondrienansammlung. Kerne in Doppelfadenstadium vor der 2^3-2^4-Teilung. Zystenwand nicht gezeichnet. Gilson. 2 200:1.

Fig. 20. Spermiogonienzysten eines Follikels mit 2^7-Zysten. Helly — Delafield.

Fig. 21. 2^3-Zyste (hobe Fokalisierung) in Metaphase mit Zystenwand. Helly. 1 150:1.

Fig. 22. 2^3-Zyste in Anaphase mit Zystenwand. Helly. 1 150:1.

Fig. 23. 2^5-Zyste in Metaphase mit Zystenwand (ohne Kern). Helly. 1 150:1.

Fig. 24. Wand einer Spermidenzyste mit gelapptem Kern. Helly — Lelafield. 1 850:1.

TAFEL 7

Fig. 25. Wand einer Spermiocytenzyste in Diakinese mit gelapptem Kern. Helly — Delafield. 1 850:1.

Fig. 27. Zystenwandkerne aus 2^7- und 2^8-Zysten. A- und b) Flaechenansicht, c) Querschnitt. Helly — Delafield. 1 200:1.

Fig. 28. Wachstum einer Leptotaenzelle (punktiert, ihr Kern schwarz ausgefuellt) zur Diakinesezelle (grosser Umriss, ihr Kern gestrichelt). Flemming. 3 000:1.

Fig. 30. Uebergang von Follikel in das vas efferens. Helly.

Fig. 31. Uebergang vom Follikelepithel in das Epithel des vas efferens mit Nekrose der Zystenwaende (bei durch den Schnitt zerrissen). Helly.

TAFEL 8

Fig. 32. Nekrotischer Kern aus der Zystenwand der Uebergangszone des Follikels in das vas efferens. Gilson. 3 000:1.

Fig. 33. Undifferenzierter Kern aus dem Keimlager des Follikelkopfes. Gilson. 3 000:1.

Fig. 34. Unwandlung eines urspruenglichen Zystenwandkernes in einen definitiven Kern. Flemming. 3 000:1.

Fig. 35. Ruhekern eines primaeren Spermiogoniums (mittlere Fokalisierung. Helly. 3 000:1.

Fig. 36. Fruehes Leptotaen aus einer 2^3-Zyste (hobe Fokalisierung. Helly. 3 000:1.

Fig. 37. Dieselbe Zelle wie in Fig. 36, aber mit mittlerer Fokalisierung. Helly. 3 000:1.

Fig. 38. Spaetes Leptotaen eines primaeren Spermiogoniums; Zerfall des achtwertigen Koerpers (hohe Fokalisierung). Gilson. 3 000:1.

Fig. 39. Dieselbe Zelle wie in Figur 38, aber mit mittlerer Fokalisierung. Gilson. 3 000:1.

Fig. 40. Faeden und Ringe aus spaetem Leptotaen einer 2^3-Rosette. Helly. 4 400:1.

Fig. 41. Diplotaen eines primaeren Spermiogoniums (Aequatorialschnitt). Gilson. 3 000:1.

Fig. 42. Etwas schematisierte Diplotaenfaeden aus einer 2^4-Zyste (hohe Fokalisierung. Helly. 3 000:1.

Fig. 43. wie Figur 42.

Fig. 44. Primaeres Spermiogonium in Pachytaen (tiefe Fokalisierung). Die Buchstaben bezeichnen die entsprechenden Stuecke der Fig. 45 und 46. Helly. 3 000:1.

Fig. 45. Dieselbe Zelle wie in Figur 44, aber in mittlerer Fokalisierung. Die Buchstaben bezeichnen die entsprechenden Stuecke der Fig. 44 und 46. Helly. 3 000:1.

Fig. 46. Dieselbe Zelle wie in Figur 44, aber in hoher Fokalisierung. Die Buchstaben bezeichnen die entsprechenden Stuecke der Figur 44 und 45. Helly. 3 000:1.

Fig. 47. Verdichtende Chromosomen der Prophase aus primaeren Spermiogonien. Gilson. 3 000:1.

TAFEL 9

Fig. 48. 22 Chromosomen in Bewegung zur Aequatorialplatte. Schwarz: hoch; punktiert: mittelhoch; weiss: tief gelegene Chromosomen. Flemming. 3 000:1.

Fig. 49. Aequatorialplatte aus 2^4-Rosette, etwas schraeg liegend, so dass die Chromosomen in etwas seitlicher Ansicht. Flemming. 3 000:1.

Fig. 50. Aequatorialplatte in primaerem Spermiogonium. Helly. 3 000:1.

Fig. 51. Fruehe Anaphase aus einer 2^4-Zyste. Helly. 3 000:1.

Fig. 52. Spaete Anaphase aus einer 2^4-Zyste. Helly. 3 000:1.

Fig. 53. Fruehe Telophase aus einer 2^4-Zyste. Helly. 3 000:1.

Fig. 54. Spaete Telophase aus einer 2^4-Zyste. Helly. 3 000:1.

Fig. 55. Birnenfoermige Tochterzellen am Ende der Telophase in einer 2^5-Zyste. Helly. 3 000:1.

Fig. 56. Schema der Chromosomenbildung im Spermiogonium.

Fig. 57. Spermiocyte. Stadium a. Grobes Netzwerk. Hohe Fokalisierung. Helly. 3 000:1.

Fig. 58. Spermiocyte. Stadium a. Grobes Netzwerk. Hittlere Fokalisierung. Helly. 3 000:1.

Fig. 59. Spermiocyte. Stadium b. Dichte Chromatinkoerner. Hohe Fokalisierung. Helly. 3 000:1.

Fig. 60. Spermiocyte. Stadium b. Dichte Chromatinkoerper. Tiefe Fokalisierung. Helly. 3 000:1.

Fig. 61. Spermiocyte. Stadium c. Fruehes Leptotaen. Hohe Fokalisierung. Flemming. 3 000:1.

Fig. 62. Spermiocyte. Stadium c. Fruehes Leptotaen. Mittlere Einstellung. Flemming. 3 000:1.

Fig. 63. Spermiocyte. Stadium d. Spaetes Leptotaen. Flemming. 3 000:1.

Fig. 64. wie Figur 63.

Fig. 65. Spermiocyte. Stadium e. Beginn der Synapsis. Flemming. 3 000:1.

Fig. 66. Spermiocyte. Synaptisches Knaeuel. Flemming. 3 000:1.

Fig. 67. Spermiocyte. Stadium f. Doppelfaeden. Mittlere Fokalisierung. Flemming. 3 000:1.

TAFEL 10

Fig. 68. Spermiocyte. Stadium f. Doppelfaeden. Tiefe Fokalisierung. Flemming. 3 000:1.

Fig. 69. wie Figur 67.

Fig. 70. Teile aus Figur 69 vergroessert.

Fig. 71. Spermiocyte. Ende des Stadiums f. a) Einzelfaden. 4 400:1; b) ganzer Kern mit zufaellig getailtem fuenfwertigem Koerper. 3 000:1; c) weitere Formen das fuenfwertigen Koerpers. 3 000:1. Flemming.

Fig. 72. Spermiocyte. Stadium der diffusen Chromosomen. Flemming. 3 000:1.

Fig. 73. Spermiocyte. Ende des Stadiums der diffusen Chromosomen. Gilson. 3 000:1.

Fig. 74. Spermiocyte. Uebergang zur Diakinese. Gilson. 3 000:1.

Fig. 75. Spermiocyte. Fuenfwertiger Koerper und Entwicklung der grossen Tetraden und der Heterochromosomen. Bouin II — Toluidin. 3 300:1.

Fig. 76. Spermiocyte. Diakinese. Gilson. 3 000:1.

Fig. 77. Spermiocyte. Diakinese. Beginn des Zerfalls des fuenfwertigen Kierpers. Flemming. 3 000:1.

Fig. 78. wie Figur 77, aber mit Fixierung nach Helly.

Fig. 79. Spermiocyte. Tetraden in Seitenansicht. Gilson. 3 000:1.

Fig. 80. Spermiocyte. Bildung der grossen Tetraden. Helly. 4 400:1.

Fig. 71. Spermiocyte. Bildung der kleinen Tetraden. Helly. 4 400:1.

TAFEL 11

Fig. 82. Spermiocyte. Schema der Tetradenbildung.

Fig. 83. Spermiocyte. Diakinese. Zerfall des fuenfwertigen Koerpers. Gilson. 3 000:1.

Fig. 84. Spermiocyte. a) Beginn der Metaphase; b) nach starker Differenzierung. Bouin II. 3 000:1.

Fig. 85. Spermiocyte. Metaphase. Aequatorialplatte. Flemming ohne Essigsaeure. 3 000:1.

Fig. 86. wie Figur 85.

Fig. 87. wie figur 85.

Fig. 88. Spermiocyte. Beginn der Anaphase. 2 grosse Tetraden (B und C) und Heterochromosomen X und Y, letztere in Teilung. Helly. 4 400:1.

Fig. 89. Spermiocyte. 2 kleine Tetraden und X-Chromosom, letzteres geteilt. Helly. 4 400:1.

TAFEL 12

Fig. 90. Spermiocyte. Haploider Chromosomensatz. Helly. 3 000:1.

Fig. 91. Spermiocyte. Einige der Autosomen der Aequatorialplatte nach starker Differenzierung. Helly. 3 000:1.

Fig. 92. Spermiocyte. Anaphase. Teilungsbeginn von vier Autosomen und einem Heterochromosom. Gilson. 4 400:1.

Fig. 93. Spermiocyte. a) Telophase und Teilung der Zelle in zwei Praespermiden; b) und c) zwei der Chromatinplatten in Aufsicht. Helly. 2 200:1.

Fig. 94. Spermiocyte. Metaphase. Aufsicht auf den Spindelpol. Flemming ohne Essigsaeure. 3 000:1.

Fig. 95. Praespermide. Drehungsstadium von der Seite gesehen. Gilson. 3 000:1.

Fig. 96. Praespermide. Drehungsstadium von oben gesehen. Gilson. 3 000:1.

Fig. 97. Praespermide. Sechs Metaphasen-Dyaden. Helly. 3 000:1.

Fig. 98. Aequatorialplatten: a) der ersten, b) der zweiten Reifungsteilung. Helly. 3 000:1.

TAFEL 13

Fig. 99. wie Figur 98.

Fig. 100. Praespermide. Metaphase. Eine grosse, eine kleine Dyade, beide Heterochromosomen. Bouin II. 4 400:1.

Fig. 101. Praespermide. Anaphase. Bouin II. 4 400:1.

Fig. 102. Praespermide. a) Anaphase; b) Aufsicht auf eine Chromatinplatte in Anaphase. Bouin II. 4 400:1.

Fig. 103. Praespermide. a) Telophase und Teilung der Zelle in zwei Spermiden; b) und c) Aufsicht auf zwei Chromatinplatten der Telophase. Gilson. 3 000:1.

Fig. 104. Spermide. Junges Stadium. Helly. 3 000:1.

Fig. 105. wie Figur 104.

Fig. 106. wie Figur 104.

Fig. 107. Spermide. Aelteres Stadium. Gilson. 4 400:1.

Fig. 108. wie Figur 107.

TAFEL 14

Fig. 109. Spermiocyte. Golgi-Apparat und Mitochondrien. In der rechten Haelfte Mitochondrien und Protoplasma nicht gezeichnet. Flemming ohne Essigsaeure. 2 200:1.

Fig. 110. Spermiocyte. Netz des Golgi-Apparates auf der Kernoberflache. Flemming ohne Essigsaeure. 2 200:1.

Fig. 111. Spermiocyte. Seitenansicht der Metaphase mit Golgi-Apparat und Mitochondrien. Flemming ohne Essigsaeure. 2 200:1.

Fig. 112. Spermiocyte. Anaphase mit Golgi-Apparat und Mitochondrien. Flemming ohne Essigsaeure. 2 200:1.

Fig. 113. Spermiocyte. Telophase mit Golgi-Apparat und Mitochondrien. Flemming ohne Essigsaeure. 2 200:1.

Contribuição ao estudo histológico do intestino médio dos insetos. Observações no intestino de uma larva de Blepharoceridae*

Rudolf Barth e **Dyrce Lacombe**
Instituto Oswaldo Cruz

(Com 13 figuras)

I. Introdução
II. Observações sôbre a anatomia
III. Observações sôbre a histologia
  1. Considerações gerais sôbre as células do intestino médio
  2. Fases de secreção
    a) Fase de pré-secreção
    b) Fase de concentração
    c) Fase inicial
    d) Fase de expulsão
    e) Fase de regeneração
    f) Células regeneradoras
IV. Interpretação dos resultados
V. Resumo
VI. Bibliografia
VII. Abreviaturas nas figuras

I. INTRODUÇÃO

Caracterizando as células glandulares da maioria dos insetos, encontra-se um bordo limiar formado pelo protoplasma da mesma, o qual, geralmente, se denomina rabdório. Sua função foi discutida por muitos autores. Van Gehuchten, em 1890, negava ao rabdório qualquer ligação com o processo de secreção. Deegener (1908 e 1909) atribuía àquela formação a função de auxiliar na expulsão da secreção, especialmente, no caso de o lume intestinal estar bem dilatado devido ao alimento ingerido, acolando-se a membrana dêste, diretamente, sôbre as células do seu epitélio. Frenzel (1882, 1885) opinou sôbre o rabdório, dando

---

* Recebido para publicação a 15 de outubro de 1955.

a êste uma função de proteção para as células que o contêm, do que discorda Deegener que acredita serem as secreções, depois de expulsas das células, espalhadas, de modo uniforme, sôbre a parede interna de todo intestino médio, formando uma camada esponjosa e, com isto, facilitando a reabsorção das partículas alimentícias.

O rabdório não se forma ùnicamente nas células do *enteron,* mas também, nas de outros órgãos, como por exemplo, nos *vas efferens* e glândulas salivares (Barth, no prelo) e nos tubos de Malpighi (Lacombe, no prelo) de *Triatoma infestans.* As formações destinadas à excreção, encontradas, freqüentemente, em muitas glândulas cutâneas (corpos esféricos, com protoplasma filamentoso, disposto em raios dirigidos para um reservatório central) representam uma homologia do rabdório, fato êste já observado por Gilson (1889) em glândulas odoríferas repugnantes (*Blaps mortisaga*) e mais tarde, também confirmado por Barth (no prelo) em *Lepidoptera* (*Syntomidae*).

Nas células do intestino médio da larva por nós estudada, encontra-se um rabdório, extremamente longo e de estrutura tão bem visível que nos foi possível fazer algumas observações histológicas, que poderão contribuir para o conhecimento de sua função. O material é proveniente do rio Campo Belo do Parque Nacional do Itatiaia (localizado entre Rio de Janeiro e São Paulo, Brasil), tendo como Diretor o Sr. Wanderbilt Duarte de Barros. As pupas e larvas de *Blepharoceridae* são encontradas aderidas às pedras nas correntezas fortes de riachos. A quantidade de algas nestas pedras é pequena, quase não visível a ôlho nu, e, entre estas, as mais comuns, as Diatomáceas. O material foi fixado no momento da captura em Carnoy com sublimado e na modificação alcoólica do Bouin. Inclusão feita em parafina com látex. A coloração usada para observações do conjunto foi hematoxilina, segundo Delafield e, para os detalhes histológicos, a hematoxilina férrica, segundo Heidenhain A espécie em estudo não foi classificada por não termos encontrado, na época, formas adultas; porém, sendo o exemplar muito comum no local, não será difícil futura classificação.

II. OBSERVAÇÕES SÔBRE A ANATOMIA

O tubo digestivo da larva dêstes *Blepharoceridae* ocupa a região mediana do corpo. E' um tubo simples, quase reto, sem curvas, e, no trecho formado entre o início do piloro até, aproximadamente, o fim do íleo, notamos acentuada alça. O diâmetro do intestino médio, comparado ao do corpo, é relativamente grande. O intestino preenche a quase totalidade da cavidade do corpo na altura dos sulcos profundos, deixando apenas pouco espaço livre para a pasagem da hemolinfa dos músculos, nervos e traquéias. A parte anterior do tubo, também chamado estomodéo, possui um faringe estreito que vai ter ao esôfago, e, do mesmo modo que êste, não oferece grandes modificações. A inglúvia (fig. 1 IN) é bem delimitada, originando uma dobra anular em direção ao interior do intestino médio para formar a válvula cardíaca que é bem visível (fig. 1 VC).

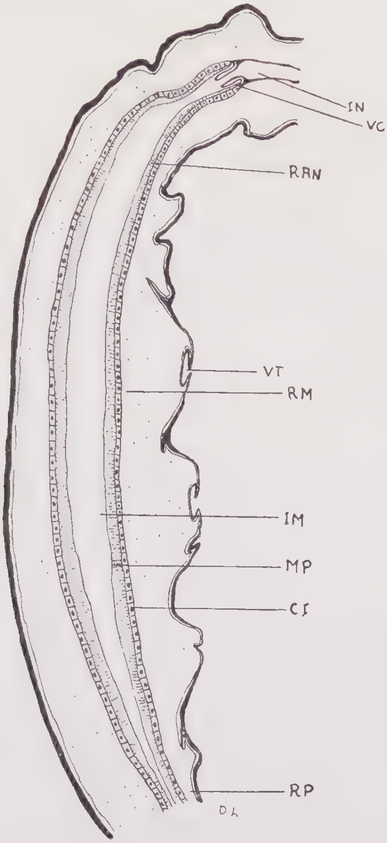


Fig. 1 — Esquema de um corte sagital mediano da larva. (Cabeça e fim do abdômen não representados.

Fig. 1 — Schema des medianen Sagitalsschnittes durch die Larve. Kopf und Abdomenend nicht gezeichnet.

O intestino médio (*mesenteron*) toma quase tôda a cavidade do corpo. É formado por uma camada de células grandes, características, com núcleo e citoplasma bem diferenciados e tendo, na parte terminal, os filamentos protoplasmáticos que constituem o rabdório. O lume do intestino contém densa massa de algas e sedimentos, que é envolvida por nítida membrana peritrófica, evitando-se assim que as células epiteliais entrem em contacto direto com o alimento. Entre o epitélio e a membrana peritrófica, há um espaço livre (cavidade do intestino) onde são encontradas secreções (fig. 2). A membrana tem origem nas células do anel imaginal situado logo após a válvula cardíaca. Segue-se ao *mesenteron* a região do piloro com seus tubos de Malpighi, e logo depois o íleo e o reto, abrindo-se êste para o exterior, através do ânus.

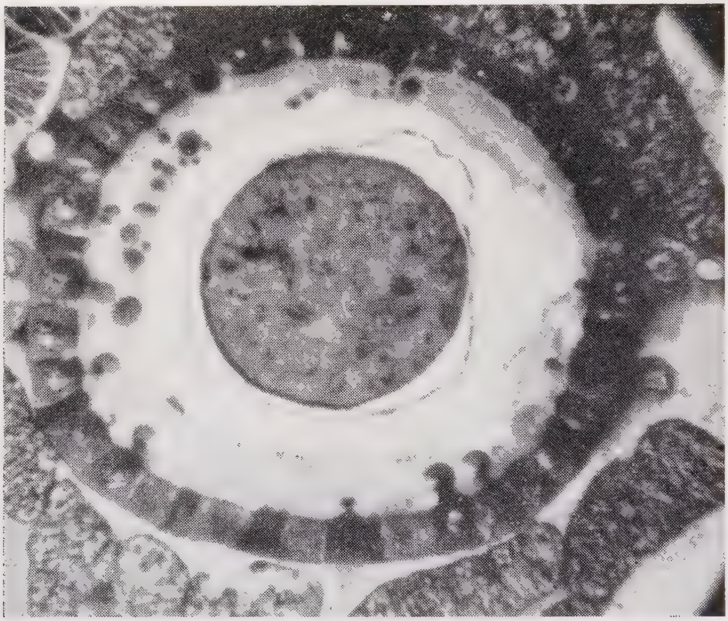


Fig. 2 — Corte transversal da região central do intestino médio. No centro, a massa alimentar circundada pela membrana peritrófica; as células do epitélio em diferentes estádios de função.

Fig. 2 — Querschnitt durch die mittlere Region des Mitteldarms. Zentral die Nahrungsmasse, umgeben von der peritrophischen Membran; die Zellen des Epithels in verschiedenen Funktionsstadien.

III. OBSERVAÇÕES SÔBRE A HISTOLOGIA

1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SÔBRE AS CÉLULAS DO INTESTINO MÉDIO

Tôdas as células do intestino médio possuem um rabdório bem nítido, que varia de altura, sendo que as células das partes anterior e posterior do *mesenteron* o têm menor que as células medianas, onde, aproximadamente, êle alcança quase que o tamanho da própria célula. Fazendo-se um exame detalhado, vemos que os fios protoplasmáticos que formam o rabdório em paralelos e orientados no sentido do eixo longitudinal da célula incluindo porções de protoplasma não diferenciado (fig. 3 RA e PL). Logo abaixo desta formação, há uma zona de citoplasma mais denso, originada por dilatações fusiformes das partes basais de cada fio daquela (fig. 3 CP). Tal zona condensada, intercalada entre rabdório e protoplasma, é de grande importância para o processo de secreção. O citoplasma destas células é filamentoso e, na sua área basal, êstes filamentos tornam-se mais regulares, formando uma zona que se sobressai do resto do citoplasma e que recebe o nome de ergastoplasma. O resto da célula é percorrido pelos filamentos que se orientam em linhas sinuosas e irregulares, mantendo, porém, em tôdas, a direção do eixo maior da célula.

Muitas vêzes, distinguimos vacúolos, porém sempre de pequeno tamanho e difíceis de serem localizados. Além disso, se verifica a formação de fendas entre os filamentos, fendas essas que se enchem de citoplasma não diferenciado e que possuem granulações pouco visíveis.

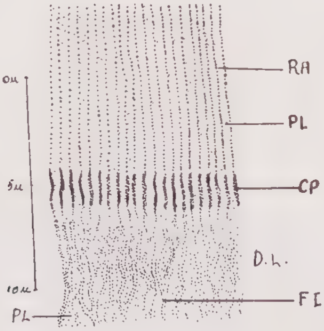


Fig. 3 — Parte do bordo apical da célula do intestino médio.

Fig. 3 — Ausschnitt aus dem apikalen Rand der Mitteldarmzelle.

O núcleo ocupa a parte central da célula, é bem nítido, deixando ver fàcilmente sua estrutura. O nucléolo é encontrado em quase todos os núcleos, distinguindo-se perfeitamente pelo tamanho e pela côr escura que apresenta. Deduzimos que êle é envolvido por fina camada de cromatina, pois após a coloração pela hematoxilina férrica, toma uma côr bem escura, enquanto que, depois de ocrado fracamente pela hematoxilina, segundo Delafield, deixa ver, no seu interior, alguns vacúolos. A cromatina, após a fixação, segundo Boiun (alcoólica), mostra uma estrutura especial que lembra a dos macrocromosomas das glândulas salivares de certos Dipteros. Alternando-se, vemos zonas claras e escuras, que se dispõem em fitas largas, dando-nos impressão de uma cadeia de partículas de cromatina fortemente corada, e aderidas a um fio de linina. Só após exame mais detalhado em outros exemplares, é que poderemos decidir se esta estrutura encontrada é real ou apenas um artefato de fixação, pois o material, após o tratamento pelo Carnoy com sublimado, mostra a cromatina com estrutura normal (figs. 5 e 7). Além disto, êstes grandes fios freqüentemente possuem uma condensação em forma de nó (fig. 4 NO).

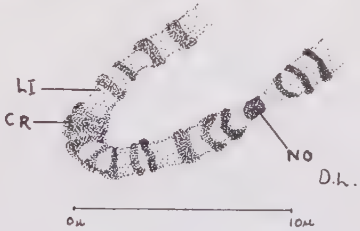


Fig. 4 — Detalhes das estruturas do núcleo.

Fig. 4 — Eine einzelne Kernstruktur stark vergroessert.

As observações sòmente foram feitas em relação às fases de secreção não nos tendo sido possível fazer as mesmas para as reabsorções, visto não termos podido fixar o material pelo Fleming; no momento de captura, não tínhamos à mão um fixador contendo ácido ósmico.

2. FASES DE SECREÇÃO

a) *Fase de pré-secreção* (fig. 5)

Nesta fase, o citoplasma apresenta-se bem condensado, formando espessos filamentos que se tornam nítidos na região acima do núcleo. Pode-se diferenciar as células dêste estádio das dos outros, pelo seu citoplasma denso e bem visível (fig. 2).

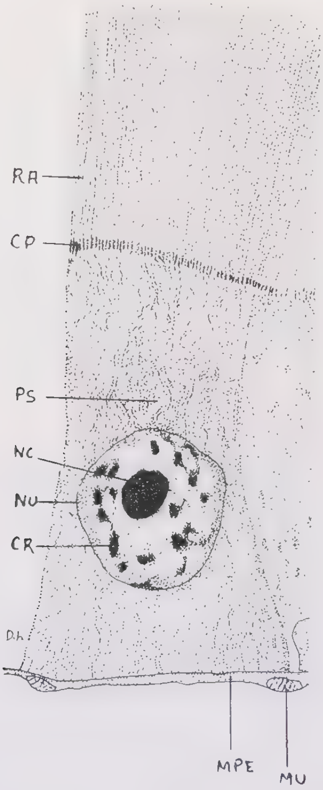


Fig. 5 — Fase pré-secretora.

Fig. 5 — Praesekretorische Phase.

A pré-secreção (fig. 5 PS) se vai acumulando nas proximidades do núcleo, especialmente acima do mesmo. Na parte basal da célula, o citoplasma é menos denso, formando o ergastoplasma que parece não conter qualquer secreção. O núcleo (fig. 5 NU), de forma arredondada, ocupa posição central. A cromatina escura aparece, nìtidamente; em situação um pouco excêntrica, persiste um nucléolo (fig. 5 NC) que, nesta fase, por ser muito denso, não permite que se veja sua estrutura. A cromatina (fig. 5 CR) dispõe-se irregularmente, havendo mesmo pouca quantidade na superfície do núcleo. O rabdório (fig. 5 RA) destas células do intestino médio, de tão alto, quase chega a tocar a membrana peritrófica, por ocasião da ingestão do alimento. Pelo espessamento da base dos fios do rabdório, aparece uma zona escura bem visível. A membrana peritoneal (fig. 5 MP) é bem acentuada, vendo-se ainda feixes de musculatura longitudinal (fig. 5 MU).

b) *Fase de concentração da secreção* (fig. 6)

A célula aumenta um pouco o seu diâmetro. O citoplasma torna-se menos denso e já podemos distinguir uma concentração maior da pré-secreção, em redor do núcleo. Esta concentração, situada na extremidade anterior do núcleo, vai dispor-se em forma de pirâmide, cujo ápice está voltado para o rabdório (fig. 6 PS). O ergastoplasma (fig. 6 ER)

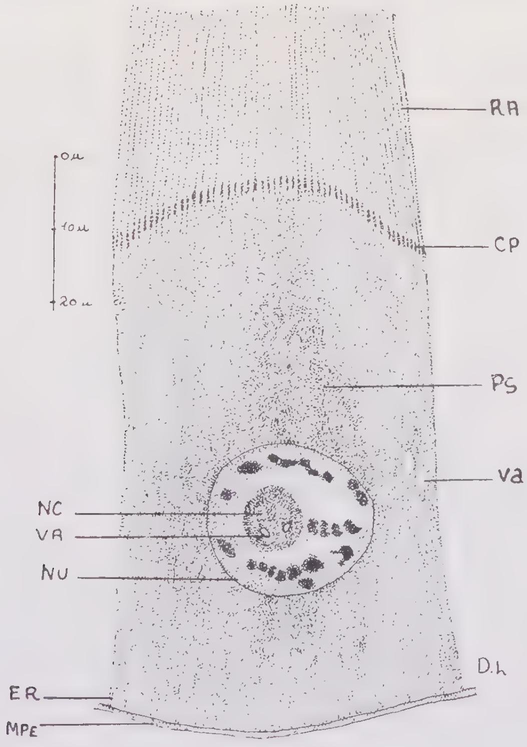


Fig. 6 — Fase de concentração.

Fig. 6 — Konzentrationsphase.

já está mais individualizado do que na fase de pré-secreção. Muitas vêzes, o citoplasma forma alguns, porém, pequenos vacúolos (fig. 6 VA), que nunca estão localizados acima do núcleo. Êste, assim como o citoplasma, têm os seus componentes menos densos, possibilitando algumas observações mais minuciosas. O nucléolo apresenta dois, três e, às vêzes, mais vácúolos que se sobressaem na sua massa cromática. O suco nuclear se acumula nas paredes e, principalmente, em tôrno do nucléolo e dos espessos filamentos de cromatina. A membrana nuclear é bem distinta em tôdas as fases de secreção. O bordo apical da célula, durante esta fase, sofre uma elevação quase perceptível. Os fios do rabdório vão afastar-se um pouco uns dos outros, em virtude justamente desta ampliação da área apical da célula, tornando conseqüentemente, também individualizados, seus espessamentos basais.

c) *Fase inicial* (figs. 7 e 8)

O ergastoplasma, já então bem nítido, forma na base da célula uma zona mais clara, fácil de se notar como nos mostra a fig. 8. O citoplas-

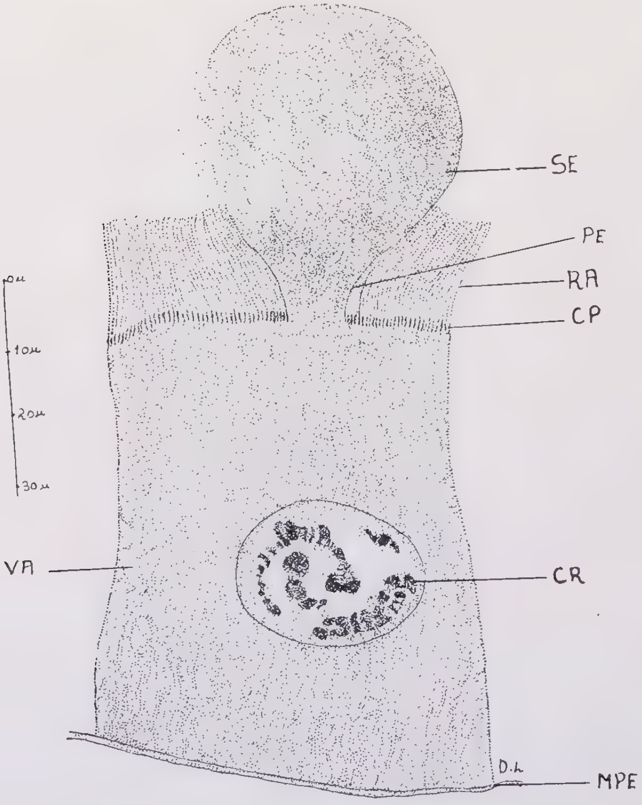


Fig. 7 — Fim da primeira fase da secreção.

Fig. 7 — Spaete Anfangsphase der Sekretion.

ma, pouco denso, tem entre seus filamentos diversos vacúolos que se encontram acima do nível do núcleo. A pré-secreção, já talvez transformada em secreção definitiva, vai sendo acumulada no bordo apical da célula, logo acima do núcleo, e, após sua expulsão, passa por entre os fios do rabdório onde vai formar grande depósito em forma de esfera. Pode observar-se em estádios sucessivos, que esta esfera se origina a partir da área apical. A secreção atravessa a parte inicial do rabdório, passando por entre os fios; durante o seu movimento, a primeira quantidade vai deslocar o citoplasma não diferenciado, de modo a que êste venha a formar uma película fina que a envolve completamente. Esta, por sua vez, mantém uma ligação com o corpo da célula por meio de um pedúnculo forte (fig. 7 PE).

Através dêste pedúnculo, vai passar a secreção, de modo que a esfera, inicialmente pequena, cresce ràpidamente, deslocando e curvando os fios do rabdório. O aspecto desta fase é tão nítido que permite observar que o rabdório não é destruído mas apenas deslocado.

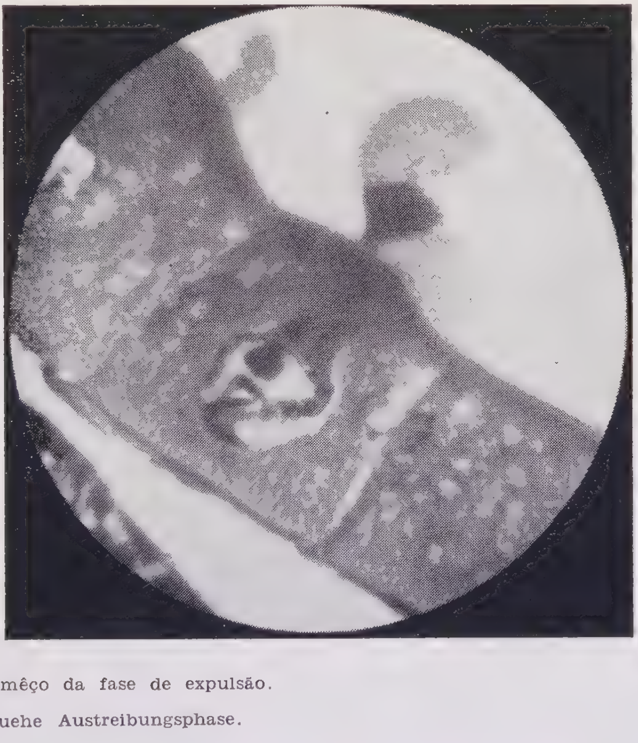


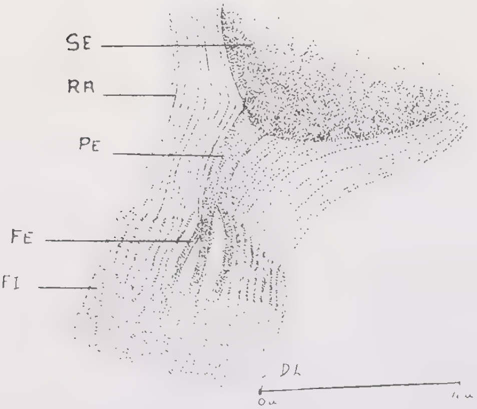
Fig. 8 — Comêço da fase de expulsão.

Fig. 8 — Fruehe Austreibungsphase.

Nesta altura, a porção da secreção, situada na parte basal da esfera, mostra a mesma condensação que a da parte apical do corpo da célula. Na região superior da esfera (fig. 8), o conteúdo vai tornar-se menos concentrado pela embebição de líquidos provenientes da cavidade do intestino. O envoltório da esfera, após rompido, deixa a secreção fluir para o intestino. As estruturas do núcleo são visíveis nesta fase. A cromatina e o nucléolo mostram, nìtidamente, à mesma forma que na fase anterior. Além da secreção sair sob forma apomerócrina, também pode ser expelida da célula, em pequenas quantidades, por entre os fios do rabdório.

d) *Fase de expulsão da secreção* (figs. 9 e 10)

A esfera, contendo a secreção, tende, cada vez mais, a se desprender da célula e, para tanto, o seu pedúnculo, que antes era curto e grosso, se torna longo e fino, permitindo assim que o conjunto se afaste, continuando contudo unido à célula. Esta ligação se faz de modo muito interessante (fig. 10 que representa um estádio entre as figs. 7 e 9).



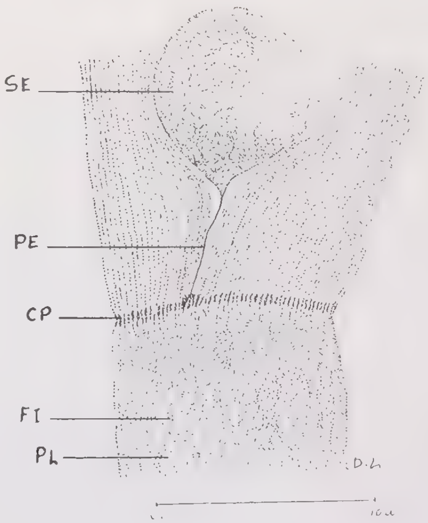


Fig. 9 — Fase intermediária da expulsão.
Fig. 9 — Mittlere Austreibungsphase.

Fig. 10 — Pedúnculo da esfera de secreção com três ramos.
Fig. 10 — Stiel der Sekretkugel mit drei Zweigen.

A figura 10 mostra o pedúnculo da esfera com três ramos basai, separados uns dos outros, no momento da passagem pela zona de espessamento do rabdório. Pouco acima desta, os citados ramos se reúnem, formando o pedúnculo pròpriamente dito, que assim como a esfera, desloca muito os fios do rabdório em todo o seu percurso. Tudo indica, claramente, que os canais condutores, durante a passagem pela citada zona do rabdório, têm de vencer certa resistência que lhes é oferecida pelos espessamentos. Por um corte feito em bizel, a zona parece ser mais alta que nos outros estádios. A secreção, quando livre na cavidade do intestino, acaba por liquefazer-se completamente, atravessando, por osmose, a membrana peritrófica para finalmente penetrar no lume do intestino.

O núcleo, nesta fase, não sofre grandes alterações, apenas se vai tornando um pouco mais denso, sendo já difícil de se ver a estrutura cromática acima citada; porém o núcléolo continua, como em tôdas as fases, bem nítido.

e) *Fase de regeneração* (fig. 11)

Após a saída da secreção, a célula volta a formar nova pré-secreção. O citoplasma, quase homogêneo, mais uma vez constitui seus fios longos e sinuosos, e, em diversas partes já notamos pequenas acumulações de pré-secreção. O núcleo segue o mesmo ritmo que o protoplasma, isto é, sua cromatina tende a espessar-se fortemente. A membrana da célula, não muito nítida, até então, vai tornando-se bem visível.

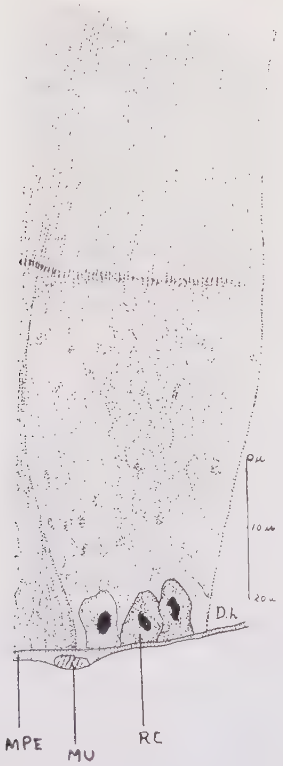


Fig. 11 — Fase de regeneração.

Fig. 11 — Regenerationsphase.

f) *Células regeneradoras* (fig. 12)

Entre as células do intestino médio, na sua porção mais basal, encontramos espalhados, por todo o epitélio, conjuntos de células pequenas, de forma irregular que são os ninhos de regeneração. Êstes não contém um nmero constante de células, podendo variar muito. O citoplasma destas é quase homogêneo, adensando-se ligeiramente ao longo da membrana celular. Seu núcleo é logo reconhecido por ter pouca cromatina e um aspecto característico, isto é, pequenos filamentos providos de condensações mais fortes de cromatina. O nucléolo, como nas células em atividade é, relativamente, grande e bem delimitado.

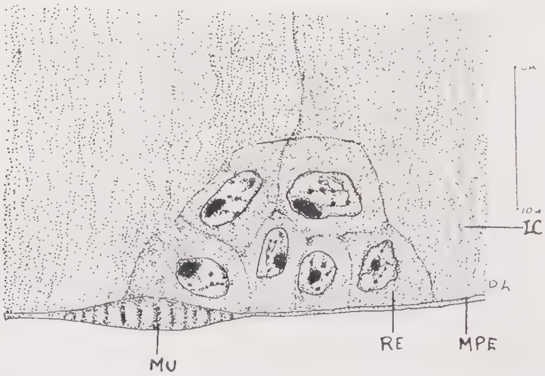


Fig. 12 — Ninho de células de regeneração.

Fig. 12 — Nest von Regenerationszellen.

E' de supor que a substância do próprio nucléolo é envolvida por uma membrana de comatina, pois, após a coloração por hematoxilina férrica, aparece completamente escuro. Estas células, ainda não diferenciadas, poderão futuramente substituir as do epitélio à medida que forem degenerando, suposição esta que não pôde ser comprovada por meio de observações.

IV. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS (fig. 13)

A secreção formada em diversos pontos do interior da célula do intestino médio, especialmente perto do núcleo, tende a acumular-se na parte inicial da mesma. Êste afluxo é facilitado pela disposição do protoplasma, que se orienta em filamentos, permitindo assim que, com muito menos esfôrço, a secreção prossiga no seu deslocamento em direção apical. Inicialmente, a acumulação se faz em tôrno da superfície do núcleo (fig. 13 B) e, finalmente, apenas na parte anterior da célula, onde se dispõe em forma de uma pirâmide cuja base se volta para o núcleo. A partir do momento em que o citoplasma se diferencia para formar o rabdório, já vemos existir um espessamento da base de cada fio cujo conjunto forma uma zona bem delimitada. A êstes aumentos não se deve chamar grânulos basais para não os confundir com as granulações correspondentes de células ciliadas e, que, até agora, ainda não foram verificadas em insetos.

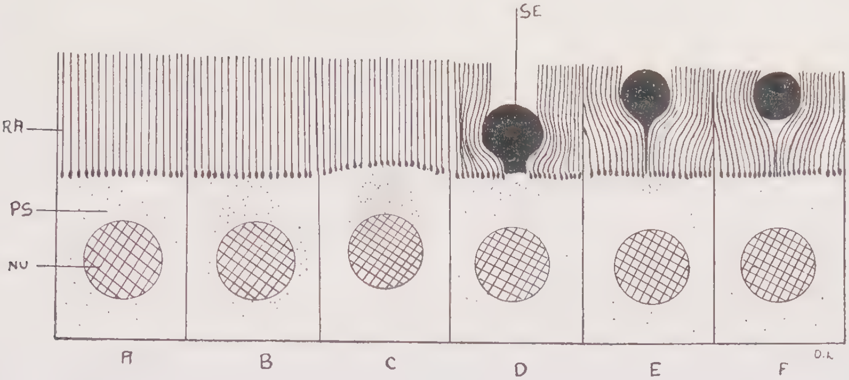


Fig. 13 — Esquema do processo de secreção (para as explicações veja o texto).

Fig. 13 — Schema des Sekretionsvorganges (Erklaerung siehe Text).

A energia necessária para o transporte da secreção é, segundo o aspecto histológico, o resultado de um efeito capilar entre os fios do protoplasma formados no interior da célula. Como se vê na figura 10, os filamentos protoplasmáticos continuam nas dilatações basais dos fios do rabdório. Entre os filamentos e os fios existe um citoplasma não diferenciado, de consistência semilíquida. No interior do corpo protoplasmático da célula vamos encontrar as pré-secreção e secreção, esta já liquefeita. Notamos que a distância entre os filamentos do citoplasma é, nìtidamente, maior do que a existente entre os fios do rabdório. O transporte da secreção, no interior da célula, é realizado por pressão, isto é, em virtude do efeito capilar. O líquido da cavidade do corpo entre na célula, atravessando o seu ergastoplasma, dilui a pré-secreção e a carrega, já sob a forma de secreção, para o pólo apical da célula. Provàvelmente há um acréscimo na energia necessária para obrigar a passagem do líquido do corpo para a célula, através da sua parede basal. Êste é condicionado pelo elevado valor osmótico do protoplasma, que ainda é intensificado pela natureza, fortemente higroscópica da secreção do mesmo, como se observa na fase final do processo de secreção.

A passagem da secreção pela parte proximal do rabdório é dificultada pelos espessamentos basais da zona de aumento, porém, em virtude do acúmulo de secreção que se vai fazendo nesta região, a superfície da célula se tornará um pouco arqueada (fig. 13 C), de modo que a resistência entre alguns dos aumentos basais vai diminuindo, em geral mais acentuadamente no centro da área apical, e então, a secreção consegue passar por entre os fios. Êste deslocamento da secreção ainda é intensificado pelo efeito capilar que, no rabdório, é maior do que no citoplasma, devido à maior distância entre os fios. A secreção vai-se acumulando entre os fios, forçando-os a se encurvarem (fig. 13 D). Esta concentração apresenta-se sob a forma de uma esfera pedunculada.

A pressão exercida pelos fios do rabdório, na base da esfera, faz com que esta se desloque em direção à cavidade do intestino. O manto protoplasmático da mesma mantém ligação com o protoplasma da célula, formando assim um pedúnculo, primitivamente grosso e contendo também secreção. Esta, com o afastamento contínuo da esfera, da mesma forma vai sendo transportada para dentro da esfera e, conseqüentemente o pedúnculo vai ser reduzido mais e mais. Neste estádio, representado na figura 13, fase E, podemos notar que os fios do rabdódio não são destruídos mas, sòmente, deslocados por ocasião da passagem da esfera. Finalmente, esta se destaca do seu pedúnculo e penetra na luz do intestino onde, pela embebição do líquido contido nesta, se rompe, deixando livre a secreção (figs. 2 e 8). Destacada a esfera do pedúnculo, êste vai ser reabsorvido pelo citoplasma. Em linhas anteriores, mencionamos que na zona apical da célula há um ponto de menor resistência pelo qual se realiza a saída da secreção; porém, ocasionalmente, como nos mostra a figura 10, é possível haver outros locais de menos resistência, de modo que neste caso a zona limiar é atravessada por três ou mais canais, que se vão reunir mais acima na formação de um único.

V. RESUMO

São estudadas diversas fases de secreção nas células do intestino médio da larva de uma espécie de Blepharoceridae. As células do intestino são caracterizadas por terem um rabdório bem distinto, cujos fios possuem em sua base um espessamento, diretamente relacionado com a expulsão da secreção.

Foram estudados os seguintes estádios:

a) fase de pré-secreção. A pré-secreção espalha-se por todo o protoplasma sob a forma de pequenas granulações (fig. 5).

b) fase de concentração da secreção. As granulações acumulam-se em tôrno do núcleo, principalmente, acima dêste, tomando o aspecto de uma pirâmide (fig. 6).

c) fase inicial. A secreção atravessa o bordo basal do rabdório e acumula-se entre os fios do mesmo sob a forma de uma esfera (fig. 7).

d) fase de expulsão da secreção. A esfera de secreção, inicialmente em contacto com o citoplasma por meio de um pedúnculo forte, tende a deslocar-se em direção à cavidade do intestino (fig. 9).

e) fase de regeneração. O protoplasma, contendo agora apenas pouca secreção, recomeça a formar novas pré-secreções (fig. 11).

Espalhados por todo o intestino, encontramos ninhos de regeneração (fig. 12).

A energia para o transporte das substâncias, durante todo êste processo, resulta da diferença de pressão osmótica entre os líquidos da cavidade do corpo e do protoplasma da célula, bem como de um efeito capilar originado da estrutura protoplasmática.

VI. BIBLIOGRAFIA

Barth, R., em prelo, Estudos anatômicos e histológicos sôbre a família *Triatominae (Heteroptera, Reduviidae)*. V. parte: Anatomia do testículo e a espermiocitogênese de *Triatoma infestans*. Neste número de Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 135.

Barth, R., em prelo, idem. IV. parte: O complexo das glândulas salivares de *Triatoma infestan*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz: 52 (1954, publicado em Abril de 1956): 517.

Barth, R., em prelo, Maenliche Duftorgane Brasilianischer Lepidopteren. 9. Mitteilung: Syntomidae. Anais da Acad. Brasil. Ciênc.

Deegener, P., 1908, Die Entwicklung des Darmkanals der Insekten waehrend der Metamorphose. Teil II. Malacosoma castrense L. Zool. Jb. (Anat.), Vol. 26.

Deegener, P., 1909, Beitraege zur Kenntnis der Darmesekretion. 1. Teil: Deilephila euphorbiae L.. Arch. f. Naturgesch. 75. Jhrg., Vol. 1.

Frenzel, J., 1882, Ueber Bau und Taetigkeit des Verdauungskanals der Larve des Tenebrio molitor mit Beruecksichtigung anderer Arthropoden. Berlin. Entom. Zeitschr. 1882.

Frenzel, J., 1885, Einiges ueber den Mitteldarm der Insekten sowie ueber Epithelregeneration. Arch. mikr. Anat., Vol. 26.

Gehuchten, van, 1890, Recherches histologiques sur l'appareil digestif de la Ptychoptera contaminata. La Cellule. Vol. 6.

Gilson, G., 1889, The odoriferous apparatus of Blaps mortisaga. Rep. 58th meeting Brit. assoc. Adv. Sc.

Verson, E., 1905, Zur Entwicklung des Verdauungskanals bei Bombyx mori. Zeitschr. wiss. Zool., Vol. 82.

VII. ABREVIATURAS NAS FIGURAS

CI	Células do intestino médio
CP	Segmentos basais dos fios do rabdório
CR	Cromatina
ER	Ergastoplasma
FE	Ramos do pedúnculo da esfera
FI	Filamentos do protoplasma
IC	Células do intestino médio
IM	Intestino médio
IN	Inglúvia
LI	Linina
MP	Membrana peritrófica
MPE	Membrana peritonal
MU	Musculatura
NC	Nucléolo
NO	Nó
NU	Núcleo
PE	Pedúnculo
PL	Protoplasma indiferenciado
PS	Pré-secreção
RA	Rabdório
RAN	Células da região anterior do intestino
RE	Células de regeneração
RM	Células do intestino médio
RP	Células da região posterior do intestino
SE	Secreção
VA	Vacúolos

Uebersetzung. Beitraege zur Histologie des Mitteldarms der Insekten. Untersuchungen am Darm einer Blepharoceridenlarve

Rudolf Barth und **Dyrce Lacombe**
Instituto Oswaldo Cruz

(Mit 13 Figuren im Text des Originals)

I. Einleitung
II. Anatomische Beobachtungen
III. Histologische Beobachtungen
  1. Allgemeine Beobachtungen an den Mitteldarmzellen.
  2. Phasen der Sekretion
    a) Praesektorische Phase
    b) Phase der Konzentration der Sekrete
    c) Anfangsphase der Sekretion
    d) Austreibungsphase
    e) Regenerationsphase
    f) Regenerationszellen
IV. Besprechung der Ergebnisse
V. Zusammenfassung
VI. Literatur
VII. Abkuerzungen in den Figuren

I. EINLEITUNG.

Der apikale Pol vieler druesiger Zellen bei Insekten ist durch einen Grenszaum (Staebchensaum, Rhabdorium) ausgezeichnet, ueber dessen Funktion verschiedene Ansichten in der Literatur zu finden sind. Waehrend van Gehuchten (1890) eine Bedeutung des Rhabdoriums fuer den Sekretionsvorgang verneint, nimmt Deegener (1908, 1909) an, dass es den Ausstoss von Sekret auch dann erlaubt, wenn durch Fuellung des Enterons die Naehrstoffmasse der Epithelzelle direkt aufliegt. Derselbe Autor lehnt die Auffassung Frenzels (1882, 1885) ab, dass e eine Schutzfunktion fuer die Zelle ausuebe, und glaubt andererseits annehmen zu Koennen dass es einmal die Sekrete nach "Art eines Schwammes" verteilt und zum anderen die Absorbtion der verfluessigten Nahrungsbestandteilte.

Die Bildung eines Rhabdoriums ist nicht auf die Zellen des Mitteldarms beschraenkt, sondern findet sich auch in anderen Organen, wie im *vas efferens* von *Triatoma infestans* (Barth, im Druck in diesem Band(und in den Speicheldruesen derselben Heteroptere (Barth, im Druck), wie auch in deren Malpigischen Gefaessen. Elbenso kann man die bekannten Ausleitungsapparate vieler Hautdruesen (ein kugelfoermiger Koerper aus Protoplasmafaeden, die strahlenfoermig auf das zentralgelegene Sekretreservatorium zulaufen) als Rhabdorium auffassen, worauf schon Gilson (1889) fuer die Stinkdruesenzellen von *Blaps mortisaga* hinweit und von Barth (im Druck) fuer Lepidopteran ebenfalls angegeben wird.

In den Mitteldarmzellen der Larve einer Blepharoceridenart fand sich ein uerberaus hohes Rhabdorium, dessen Struktur so deutlich und gut zu beobachten war, dass einige histologische Beobachtungen angestellt werden konnten, die zu der Frage der Funktion dieses Zellorganells einige interessante Punkte beitragen koennen. Das Material stammt aus dem Rio Campo Bello im Naturschutzpark des Itatiaia-Gebirges im Estado do Rio (zwischen Rio de Janeiro und São Paulo) (Direktor: Dr. Wanderbilt Duarte de Barros). Die Larven und auch Puppen haften in der staerksten Stroemung des Wildwassers an den Granitsteinen, deren Algenbesatz sehr gering und mit blossen Auge kaum wahrnahmbar ist. Das Material wurde an Ort und Stelle mit Carnoy (mit Sublimatzusatz nach Weber) und in alkoholischer Loesung nach Bouin fixiert. Die Einbettung erfolgte in Gummiparraffin. Als Uebersichtsfaerbung diente Delafield's Haematoxâlin, als Faerbung fuer die histologische Untersuchung Eisenhaermatoxylin nach Heidenhain. Die wurde nicht bestimmt, da Imagines nicht gefunden wurden; doch ist die Art in dem genannten Flusslauf gemein, so dass eine Klassifizierung spaeter nachgeholt werden kann.

II. ANATOMISCHE BEOBACHTUNGEN

Der Verdauungskanal der vorliegenden Larve duchzieht den groessten Teil des Koerpers als einfacher Tubus ohne irgendwelche Falten oder Schlingen. Nur vom Anfang des Pylorus an bis etwa zum Ende des Ileums bildet er eine scharf abgesetzte Kurve. Das Lumen des Mitteldarms ist im Vergleich zum Durchmesser des Koerpers relativ gross; an den tief eingeschnittenen Verengungen des Koerpers fuellt er fast die ganze Koerperhoehle aus und laesst nur wenig Raum frei fuer die Passage von Haemolymphe, Nerven, Muskeln und Trachel von einem Koerperabschnitt zum anderen.

Der vordere Teil des Darmkanals, das Stomodaeum, beginnt mit einem engen Pharânx, der wie der folgende Oesophagus, keine besonderen Merkmale zeigt. Die Ingluvial-Region (Fig. 1, IN) setzt sich scharf vom Mieetldarm durch eine Ringfalte ab, der im Innere die wohlausgebildete *valvula cardiaca* entspricht (Fig. 1, VE).

Der Mitteldarm mit seinem weiten Querschnitt nimmt einen grossen Teil der Koerperhoehoe ein. Er wird von einer Schhicht grosser, charakteristischer Zellen mit grossem Kern und umfangreichem Protoplasmakoerper gebildet. Der apikale Zellpol traegt einen hohen Saum von senkrecht stehenden protoplasmatischen Filamenten, das Rhabdorium. Der Darminhalt, der aus einer dichten Masse der verschiedensten Algen (Diatomeen) und Sedimenten besteht, wird von einer deutlich ausgebildeten peritrophischen Membran eingeschlossen, die verhindert, dass die Epithelzellen mit der zentralen Masse in Beruehrung kommen. Zwischen Epithel und peritrophischer Membran besteht ein freier Raum, in dem die Sekrete gefunden werden (Fig. 2). Die Membran beginnt am Imaginalring unmittelbar hinter den Zellen der *valvula cardiaca*.

Auf das Enteron folgt der Pydorus mit den Malpighischen Gefaessen, darauf das Ileum und das Rektum, das im Anus nach aussen muendet.

III. HISTOLOGISCHE BEOBACHTUNGEN.

1. ALLGEMEINE BEOBACHTUNGEN AN DEN MITTELDARMZELLEN

Alle Mitteldarmzellen besitzen ein auffallend kraeftiges und hohes Rhabdorium, das jedoch in Bezug auf seine Hoehe typischen Schwankungen unterworfen ist. So tragen die Zellen des vorderen und hinteren Teiles des Enteron ein niedrigeres Rhabdorium als die median gelegenen, wo es fast bis zur eigenen Hoehe der Zellen ansteigt.

Eine Analyse des Rhabdoriums ergibt, dass es sich aus protoplasmatischen, parallen Faeden zusammensetzt, die in Richtung der Zelllaengsachse orientiert sind und die zwischen sich Teile von undifferenziertem Protoplasma einschliessen (Fig. 3, RA und PL). Unterhalb des Rhabdoriums findet sich eine verdichtete Zone des Protoplasmas, die aus kurzen spindelfoermigen vierdickungen des basalen Teils eines jeden Rhabdoriumfadens besteht (Fig. 3, CP). Diese gekennzeichnete Zone steht mit der Ausleitung der Sekrete aus der Zelle in das Darmlumen in enger Verbindung (siehe unten).

Das Protoplasma der Zelle ist deutlich filamentoes. An der basalen Zellflaeche sind die Filamente regelmaessiger angeordnet; diese Zone kann, da sie sich mehr oder weniger scharf vom uebrigen Zellkoerper abhebt, als Ergastoplasma unterschieden werden. In den uebrigen Teilen der Zelle bilden die Filamente unregelmaessige geschlaengelte Linien, die aber insgesamt gesehen sich in Richtung der Laengsachse zum apikalen Pol erstrecken. An einzelnen Stellen kommt es zur Bildung kleinerer Vakuolen, die zum Teil undeulich begrenzt sind. Im uebrigen liegen zwischen den Filamenten zahlreiche schmale Spaltraeume, die von undifferenziertem Cytoplasma ausgefuellt sind oder aber schwach sich abhebende Granunlationen besitzen.

Der annaehernd zentral gelegene Zellkern ist deutlich begrenzt und zeigt zumeist scharf gezeichnetes Chromatin. Der Nukleolus, immer in der Einzahl vorhanden, ist relativ gross und zumeist in Kernmitte gelegen. Da er nach Faerbung mit Eisenhaematoxylin tief schwarz gefaerbt ist, waehrend er nach schwacher Faerbung mit DELAFIELD's Haematoxylin mehr oder weniger transparent bleibt, kann angenommen werden, dass er von einer duenneren Schicht von Chromatinkoer-

Pern ueberzogen ist. In seinem Inneren laesst sich eine wechselnde Anzahl von kleinen Vakuolen unterscheiden. Das Chromatin zeigt nach Fixierung nach *Bouin* (alkoholisch) eine eigenartige Struktur, die an die Macrochromosomen der Speicheldruesen gewisser Dipteren erinnert: es finden sich (Fig. 4) abwechselnd helle und dunkle Zonen auf den breiten Baendern, so als ob auf einem breiten Lininfaden der selbst schwach gefaerbt bleibt, groessere stark gefaerbte Chromatinbrocken aufgereiht waeren. Ob es sich um eine regelmaessig anzutreffende Struktur haendelt, kann erst nach Durchsicht neuen Materials gesagt werden. Vielleicht ist es ein Fixierungsprodukt, da bei Material nach Fixierung mit *Carnoy*-Sublimat das Chromatin in der normalen Weise strukturiert ist (vergl. Fig. 5 und 7). Auffallend ist, dass die grossen Faeden haueufig eine knotenfoermige Zusammenziehung zeigen (Fig. 4, NO).

In dieser Arbeit wurden nur die Sekretionsphasen beobachtet, waehrend die Vorgaenge der Absorbtion nicht beruecksichtigt wurden, da beim Fang kein Osmiumsaeure enthaltendes Fixierungsmittel zur Verfuegung stand.

2. PHASEN DER SEKRETION

a) *Praesekretorische Phase* (Fig. 5).

In dieser Phase ist das Cytoplasma insgesamt gesehen sehr dicht und zeigt Filamente von betraechtlicher Staerke, die sich oberhalb des Kernes deutlicher optisch isolieren lassen als unterhalb desselben. Die Dichte des Zellkoerpes laesst die Zellen dieses Stadiums sich scharf von denen in anderen Phasen unterscheiden (Fig. 2). Das Praesekret (Fig. 5, PS) sammelt sich in Kernnaehe, besonders oberhalb desselben an. Basalwaerts ist das Protoplasma weniger dicht und scheint keine Sekrete zu enthalten; es bildet hier ein deutliches Ergastoplasma.

Der abgerundete, zentral gelegene Kern (NU) besitzt tief schwarz faerbbares Chromatin, das sich, scharf begrenzt, von seiner Umgebung abhebt (CR). Ein wenig exzentrisch liegt der Nukleolus (NC) der in dieser Phase sehr dicht zu sein scheint, da er seine innere Struktur nicht zu erkennen gibt. Das Chromatin verteilt sich ueber den freien Innenraum des Kerns, waehrend wandstaendiges wenig gefunden wird.

Das Rhabdorium (RA) dieser in Figur 5 und 10 dargestellten Zellen aus dem Mittelteil des Darm ist so hoch, dass es bei Fuellung des Darms mit Nahrungsbrei fast an die peritrophische Membran heranreicht. Die dunkle Zone der basalen Verdickungen der Rhabdoriumfaeden ist gut sichtbar. Die peritoneale Membran (MP) ist kraeftig und besitzt einzelne Buendel von Laengsmuskeln (MUP).

b) *Phase der Konzentration des Sekrets* (Fig. 6).

Die Zelle vergroessert in dieser Phase etwas ihren Durchmesser. Ihr Cytoplasma ist jetzt weniger dicht und es laesst sich eine schaerfer umrissene Zone der Konzentration des Praesekrets beobachten. Sie erstreckt sich ueber die ganze Umgebung des Kerns, seitlich und unterhalb weniger, oberhalb aber in kraeftiger Ausbildung in Form einer Pyramide mit ihrer Spitze zum Rhabdorium gewandt (Fig. 6, PS). Das Ergastoplasma (ER) ist deutlicher als es in der vorherigen Phase war. Oft finden sich, ausserhalb der Konzentrationszone, kleine Vakuolen (VA) im Cytoplasma, die aber nicht oberhalb des Kernes auftreten.

Wie im Protoplasma erfolgt auch im Kern eine Auflockerung, so dass mehr Einzelheiten erkennbar werden: der Nukleolus zeigt zwei, drei oder auch mehrere Vacuolen, die jetzt durch die chromatische Umhuellung hindurchscheinen. Im Kernwasser haeufen sich granulierte Substanzen an den Waeden und in der Naehe des Nukleolus, wie auch um die kraeftigen Baender des Chromatins. Die Kernmembran ist wie in allen Phasen der Sekretion sehr deutlich und kraeftig ausgebildet. Die Apikalflaeche der Zelle erleidet waehrend dieser Phase eine geringe, oft wenig deutliche Woelbung nach oben. Die Faeden des Rhabdoriums weichen wegen der geringfuegigen Vergroesserung der Zelloberflaeche etwas auseinander, so dass die basalen Verdichtungen der Faeden sehr deutlich sichtbar und optisch zu isolierten sind.

c) *Anfangsphase der Sekretion* (Fig. 7 und 8).

Das Ergastoplasma, das bisher schon sehr deutlich war, bildet in dieser Phase an der Basis der Zelle eine leicht auffindbare hellere Zone (Fig. 8). Das sich weiter auflockernde Protoplasma zeigt zwischen seinen Filamenten zahlmenten Vakuolen, die auch ueber die Hoehe des Kerns hinaufsteigen. Die Praesekrete, vielleicht auch jetzt schon in Form der definitiven Sekrete, haeufen sich am apikalen Pol der Zelle an, unmittelbar ueber dem Kern gelegen; kurz darauf treten sie aus dem Zellkoerper und schliessen sich zu einer grossen Kugel zusammen, die nun zwischen den Faeden des Rhabdoriums liegt. In sich folgenden Stadien kann man beobachten, dass die Kugel sukzessiv von unten aufgebaut wird: die ersten Sekretmengen dringen durch den Basalsaum des Rhabdorium hindurch und steigen zwischen den Faeden aufwaerts. Dabei nehmen sie das undifferenzierte Protoplasma zwischen den Faeden mit, das sich als duenner Mantel um das Sekret legt, das nur noch durch einen kraeftigen Stiel (Fig. 7, PE) mit dem Zelleib in Verbindung seteht. Durch diese Bruecke fliesst nun weiterhin Sekret nach, so dass die zuerst kleine Kugel schnell anschwillt und die Faeden des Rhabdoriums zur Seite draengt. Die Bilder dieser Phase sind so deutlich, dass zu erkennen ist, dass das Rhabdorium nicht zerstoert, sondern nur verlagert wird. Dabei ist der basal gelegene Teil des Sekrets in der Kugel in der gleichen Weise kondensiert wie das im Apikalteil des Zellkoerpers; der obere Kugelteil (Fig. 8) hat schon begonnen, durch Verquellen in der Fluessigkeit des Darmlumens sich zu oeffnen, sein Sekret ist wesentlich lockerer und im Begriff sich zu verteilen.

Die Kernstrukturen bleiben auch in dieser Phase deutlich erkennbar. Das Chromatin und der Nukleolus zeigen sehr klar die oben geschilderte Zusammensetzung (Fig. 7, CR).

Der Typ des Sekretionsvorganges ist als apomerocrin zu bezeichnen. Abgesehen von der Sekretkugel scheinen geringe Mengen von Sekret an weiteren Stellen des Rhabdoriums ohne Bildung einer Kugel in Form kleiner Troepfchen auszutreten.

c) *Austreibungsphase* (Fig. 9 und 10).

Die Sekretkugel verlagert sich jetzt schnell vom Ursprungspunkt nach oben und gleitet durch das Rhabdorium, wobei der anfangs kurze und dicke Stiel immer laenger und duenner wird. Er haelt aber die Verbindung zum Protoplasmakoerper weiterhin aufrecht. Die Stelle des Zusammenhalts des Stiels mit dem Cytoplasma ist besonders interessant: in Figur 10, ein Stadium zwischen Figur 7 und 9, besitzt der Stiel der Kugel drei deutlich von einander getrennte Fuesse an der Stelle, wo er durch das Rhabdorium hindurch geht. Kurz darauf vereinigen sich die Aeste zum eigentlichen Stiel, der, wie auch die Kugel, die Faeden kraeftig auseinander draengt. Das Bild zeigt deutlich, dass die Zuleitungskanaele zur Sekretkugel beim Passieren durch die Basalzone einen gewissen Widerstand zu ueberwinden haben. Durch etwas schraege Schnittfuehrung erscheint die Basalzone anormal vergroessert.

Die jetzt frei im Darmlumen liegenden Sekrete werden endgueltig verfluessigt und treten osmotisch durch die peritrophische Membran in den Nahrungsbrei ein.

Der Kern veraendert sich in dieser Phase nur wenig, nur dass er im Ganzen gesehen etwas dichter wird und die Strukturen seines Chromatins an Deutlichkeit verlieren; der Nucleolus jedoch bleibt deutlich wie in allen Phasen.

e) *Regenerationsphase* (Fig. 11).

Nach dem Sekretaustritt beginnt die Zelle wieder mit der Bildung neuer Praesekrete. Das mehr oder weniger homogene Protoplasma am Ende der vorigen Phase zeigt wieder einen deutlich filamentoesen Aufbau und zwischen den Faeden vereinzelt die ersten kleinen Anhaeufungen von Praesekreten. Der Kern restauriert ebenfalls seine Struktur und schliesst sich damit dem Rhytmus des Protoplasmas an; sein Chromatin beginnt, sich wieder schaerfer zu begrenzen. Die in den Sekretionsstadien durch Ueberlagerung mit Sekreten wenig deutliche Zellmebran ist jetzt bei geleerten Zellen deutlicher zu erkennen.

f) *Regenerationszellen* (Fig. 12).

Zwischen den baselen Teilen der Mitteldarmzellen finden sich ueber das ganze Epithel verstreut Anhaeufungen von kleinen unregelmaessig geformten Zellen, die als Regenerationszellen zu bezeichnen sind und sich in Regenerationsnestern zusammenschliessen. Die Anzahl der in den Nestern enthaltenen Zellen ist nicht konstant, sondern schwankt in starkem Masse. Ihr Cytoplasma ist fast homogen und laesst nur an den Waenden schwache Konzentrationszonen erkennen. Die Zellkerne sind scharf gegen das Protoplasma abgegrenzt, da sie nur wenig Chromatin besitzen, das sich in einzelnen, relativ grossen Brocken auf dem Geruestwerk verteilt. Der Nukleolus ist, wie in den aktiven Darmepithelzellen, relativ gross und scharf umrissen; da er, bezw. die ihn einschliessende Masse mit Eeisenhaematoxylin sich schwarz faerbt, ist anzunehmen, dass die eigentliche Materie des Nukleolus von einer Chromatinschicht eingehuellt ist. Diese voellig undifferenzierten Zellen dienen zum Ersatz der nach einer laengeren aktiven Zeit degenerierenden Epithelzellen, eine Vermutung, die nicht durch Beobachtungen belegt ist.

IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE (Fig. 13).

Das im Protoplasma der Mitteldarmzellen, besonders im Raum um den Kern gebildete Vorsekret hat die Neigung sich mehr und mehr im apikalen Teil der Zelle anzureichern (Fig. 13,A). Es besteht aus sehr feinen Granulationen, die in den mit undifferenzierten Câtoplasma angefuellten Spalten zwischen den Filamenten gelegen sind. Die Bewegung der Materie in der Zelle wird wahrscheinlich durch die filamentoese Protoplasmastruktur, die in Richtung des Transportes, d.h. in Richtung der Zellaengsachse, orientiert ist, erleichtert, wenn nicht sogar ermoeglicht. Anfaenglich findet sich die Anhaeufung der Praesekrete in Kernnaehe (Fig. 13, B), spaeter dagegen nur im Apikalteil der Zelle in einer pyramidenfoermigen Region zwischen Kern und Rhabdoriumbasis (C). An der Grenzzone zwischen Cytoplasma und Rhabdorium findet sich die erwaehnte Zone der basalen Verstaerkungen der Rhabdoriumfaeden, die nicht Basalkoerner genannt werden, um keine Verwechselung mit den entsprechend gelegenen Granulas einer wimpertragenden Zelle zu geben, die bisher bei Insekten noch nicht gefunden wurde. Diese Verstaerkungen sind von grosser Bedeutung fuer das Aufsteigen und damit fuer den Austritt der Sekrete.

Die Energie fuer den Sekrettransport ist, dem histologischen Bild menten des Cytoplasmas deutlich groesser sind als die zwischen den protoplasmatischen Filamenten im Inneren der Zelle. Wie aus der Figur 10 ersichtlich ist, setzen sich die Filamente in die basalen Verstaerkungen der Rhabdoriumfaeden fort. Zwischen den Filamenten und Faeden findet sich ein nicht differenziertes Protoplasma von etwa halbfluessiger Konsistenz. In diesen Teilen im Inneren des Protoplasmaleibes finden sich nun die Praesekrete und die verfluessigten Sekrete. Man kann beobachten, dass die Abstaende zwischen den Filamenten des Cytoplasmas deutlich groesses sind als die zwischen den Faeden des Rhabdoriums. Der Transport der Sekrete im Inneren der Zelle erfolgt durch den Sekretdruck, d.h. auf Grund der erwaehnten Kapillarwirkung tritt die Koerperfluessigkeit, durch das Ergastoplasma hindurch tretend, in das Innere der Zelle und loesst hier die Praesekrete auf, um sie, nun in Form von Sekreten, zum apikalen Pol der Zelle zu transportieren. Die Energie fuer den Durchtritt der Fluessigkeit vom Koerper in die Zelle durch die basale Zellwand wird wahrscheinlich durch den grossen osmotischen Wert des Protoplasmas hervorgerufen, der durch die Sekrete bedingt wird, die, in der Endphase des Sekretvorganges erwaehnt, stark hygroskopisch sind. Im apikalen Teil der Zelle wird der Uebergang der Sekrete in das Rhabdorium durch die Zone der basalen Verstaerkungen anfangs verhindert. Durch die Anhaeufung der Sekrete in dieser Region woelbt sich die Oberflaeche der Zelle etwas auf (Fig. 13, C), so dass zwischen einigen der Basalverstaerkungen der Widerstand geringer ist und das Sekret an dieser Stelle, die zumeist dem Zentrum der Flaeche entspricht, zwischen die Rhabdoriumfaeden eindringen kann. Diese Sekretbewegung wird verstaerkt durch den Kapillareffekt des Rhabdoriums, der wegen des geringen Abstandes seiner Faeden groesser ist als im Protoplasma.

Das Sekret sammelt sich jetzt zwischen den Rhabdoriumfaeden an, die sich infolge dessen ausenander biegen (Fig. 13, D). Die Anhaeuiung erfolgt in Form einer gestielten Kugel. Durch den Druck, den die Rhabdoriumfaeden auf die Basis der Kugel ausueben, wird bewirkt, dass diese sich in Richtung zum Darmlumen bewegt. Der protoplasmatische Mantel der Kugel bleibt in Verbindung mit dem Cytoplasma, das zwischen den Filamenten des Zelleibes gelegen ist, so dass ein im Anfang dicker Stiel gebildet wird, der noch Sekrete enthaelt. Mit dem weiteren Aufsteigen der Kugel verlagert sich das Sekret aus dem Stiel ebenfalls in die Kugel, so dass derselbe sich mehr und mehr verschmaelert. In diesem Stadium, dass der Phase E in Figur 13 entspricht, koennen wir feststellen, dass die Faeden des Rhabdoriums nicht zerstoert werden, sondern nur infolge der Bildung und Passage der Kugel zur Seite gebogen werden.

Zum Schluss des Vorganges loest sich die Kugel von dem Stiel und tritt in die Darmhoehle ein, wo sie durch Dillatation infolge Imbibition mit der dortigen Fluessigkeit platzt und das Sekret befreit wird (Fig. 2 und 8).

Nach dem Abloesen der Kugel wird der Stiel wieder vom Cytoplasma absorbiert.

Oben wurde dargelegt, dass in der Apikalzone der Zelle sich zwischen den Basalvertaerkungen der Rhabdoriumfaeden ein Punkt geringeren Widerstandes bildete, wo das Sekret einen Ausweg aus der Zelle fand; wie aber die Figur 10 zeigt, ist es moeglich, dass auch gleichzeitig mehrere solcher Punkte auftreten koennen, so dass — in diesem Falle drei — mehrere Kanaele die Grenzzone durchdringen, die sich weiter oberhalb zu einem einzigen vereinigen.

V. ZUSAMMENFASSUNG.

Es werden die Sekretionsphasen der Mitteldarmzellen der Larve einer Blepharoceridenart beschrieben. Die Epithelzellen sind charakterisiert durch den Besitz eines sehr deutlichen Rhabdoriums, dessen Faeden an ihrer Basis eine Verdickung tragen, deren Funktion mit dem Sekretvorgang in direkter Verbindung zu stehen scheint.

Es wurden folgende Stadien gefunden:

a) Vorsekretorische Phase. Die Praesekrete sind ueber das ganze Protoplasma in Form kleiner Granulationen verstreut (Fig. 5).

b) Konzentrationsphase. Die Granulationen sammeln sich in Kernnaehe, besonders oberhalb desselben in Pyramidenform (Fig. 6).

c) Anfangsphase der Sekretion. Die Sekrete treten durch den Grenzsaum zwischen Protoplasma und Rhabdorium hindurch und schliessen sich zwischen den Faeden des letzteren zu einer Kugel zusammen (Fig. 7).

d) Austreibungsphase. Die anfangs durch einen kraeftigen Stiel mit dem Cytoplasma in Zusammenhang stehende Sekretkugel gleitet durch das Rhabdorium in das Darmlumen (Fig. 9).

e) Regenerationsphase. Das mit geringen Resten von Sekret verbliebene Cytoplasma beginnt mit der Neubildung der Praesekrete (Fig. 11).

Verstreut ueber das ganze Epithel des Mitteldarms finden sich Nester von Regenerationszellen (Fig. 12).

Die Energie fuer den Materialtransport waehrend all dieser Vorgaenge resultiert sowohl aus dem osmotischen Differential zwischen Koerperfluessigkeit und Protoplasma, wie aus einem Kapillareffekt der filamentoesen Strukturen des Cytoplasmas und des Rhabdoriums. Die basalen Verstaerkungen der Rhabdoriumfaeden bedingen die Ausbildung einer Sekretkugel.

VI. LITERATUR. (Siehe am Schluss des portugiesischen Teils.)

VII. ABKUERZUNGEN IN DEN FIGUREN.

CI	Mitteldarmzellen
CP	Basale Verstaerkungen der Rhabdoriumfaeden
CR	Chromatin
ER	Ergastoplasma
FE	Zweige des Kugelstiels
FI	Filamente des Cytoplasmas
IC	Mitteldarmzelle
IM	Mitteldarm
IN	Kropf, Ingluvia
LI	Linin
MP	Peritrophische Membran
MPE	Peritoneale Membran
MU	Muskulatur
NC	Nukleolus
NO	Chromatinkondensation
NU	Zellkern
PE	Kugelstiel
PL	Undifferenziertes Protoplasma
PS	Praesekret
RA	Rhabdorium
RAN	Zellen des vorderen Mitteldarms
RE	Regenerationszellen
RM	Zellen des mittleren Mitteldarms
RP	Zellen des hinteren Mitteldarms
SE	Sekret
VA	Vakuolen

Acerca del ciclo evolutivo del *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas 1909, en sus fases tisular y hematica[*]

Cecilio Romaña
Instituto de Medicina Regional, Resistencia, Argentina

(Com 5 figuras no texto)

No obstante los años transcurridos desde el descubrimiento de la enfermedad de Chagas y los estudios realizados sobre el *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* Chagas 1909, que la produce, existen aún diferencias de opinión sobre el ciclo evolutivo por el cual pasa el flagelado después de su ingreso en los organismos vertebrados.

Particularmente en los últimos años el tema ha vuelto a ser considerado en diversas publicaciones que han aportado interesantes elementos de juicio al problema.

Conviene antes de referirse a tales trabajos recapitular las opiniones vertidas anteriormente por los primeros autores que se ocuparon del asunto.

Carlos Chagas, desde el comienzo de sus estudios, se interesó por saber qué es lo que ocurría con los flagelados que, de los triatóminos transmisores penetraban en el organismo del hombre y de los mamíferos sensibles.

En su primera publicación de 1909 acertó en señalar que el tripanosoma se multiplicaba en la intimidad de los tejidos, habiendo sido conducido a esta conclusión correcta por una confusión con otro parásito que infectaba los animales de experimentación que utilizaba. Tomó por formas hísticas del *T.* (*S.*) *cruzi* formas de esquizogonia pulmonares del *Pneumocystis carinii*.

En el mismo trabajo refiere Chagas el modo en que los tripanosomas sanguineos pasan a la forma de multiplicación intracelular. Describió el fenómeno en los capilares del pulmón donde los tripanosomas perderían el flagelo y la membrana ondulante, se curvarían para adquirir primero una forma semilunar, para luego fundir-se en una forma esférica con núcleos y blefaroplasto; luego continúa Chagas refiriendo la multiplicación esquizogónica, que veía en sus preparados.

---

[*] Recebido para bublicação a 25 de Outubro de 1955.

Es indudable que la primera parte del fenómeno, es decir el acortamiento, el doblamiento sobre si mismo y la pérdida de flagelo y membrana ondulante fueron observados sobre tripanosomas, como se aprecia en los dibujos que publicó (pág. 177 del trabajo citado); habiendo estudiado la faz esquizogónica posterior sobre *Pneumocystis* según se vé en los mismos diseños.

Los fundamentales estudios de GASPAR VIANNA, 1911, ayudaron rápidamente a CHAGAS a rectificar parte de las conclusiones a que había llegado en sus primeras publicaciones, reconociendo que la multiplicación intracelular del parásito se realizaba también por un mecanismo de división binaria.

En el trabajo que CHAGAS publicó en 1911 acepta ya las ideas de VIANNA, quien hace conocer sus investigaciones en el mismo número de las *Memórias*. Sin embargo, CHAGAS nunca abandonó por completo su primitiva idea de la multiplicación esquizogónica, considerando que coexisten las dos formas de multiplicación intracelular del parásito: la esquizogónica y la división binaria. Además sostuvo desde sus primeras investigaciones que había dos mecanismos en la formación de jóvenes parásitos, tanto en el huésped vertebrado como en el triatómino transmisor: por gametogonia, es decir por multiplicación sexuada y por multiplicación asexuada. Impresionado por la existencia concomitante de dos formas sanguineas del flagelado facilmente deferenciables, consideró a los tripanosomas anchos formas hembras y a las finas y largas tripanosomas machos. La unión sexual se realizaría en el aparato digestivo del triatómino, siguiéndose luego el ciclo sexual en este insecto con un mecanismo semejante al que ocurre en la malaria.

También CHAGAS señaló la existencia de formas endoglobulares del tripanosoma, formas endoglobulares que posteriormente han sido consideradas como ejemplares libres superpuestos sobre glóbulos rojos y erróneamente interpretados en los preparados[1].

GASPAR VIANNA (1911) y HARTMANN (1911) fueron quienes por primera vez señalaron correctamente las formas intracelulares del *T.* (*S.*) *cruzi* mostrando que podían ser halladas bajo figura de leishmania y también bajo forma flagelada. El primero estudió muy bien la multiplicación de los parásitos en cortes histológicos de autopsias humanas y de animales de experimentación, observando el proceso en el interior de las células, el relleno del protoplasma con las formas de multiplicación y por último la ruptura de la membrana celular con la salida de los protozoarios; haciendo notar, cuando se refiere al tejido muscular, que "... parásitos, unos todavía redondos, otros ya flagelados son lanzados en los intersticios de las fibras musculares".

---

[1] Sin embargo conviene notar aquí una observación que hemos realizado hace poco tiempo sobre sangre de tatú (*Dasypus novemcintus*) muy parasitado por *T.* (*S*) *cruzi*. Siguiendo por varias horas en la platina del microscopio, gotas frescas de sangre, hemos visto la penetración de tripanosoma al interior de glóbulos rojos y hemos podido observar que, en tales condiciones, el flagelado se mantiene endoglobular y aún inicia un proceso de regresión hacia leishmanioide. Ahora bien, nunca hemos podido observar parásitos endoglobulares en preparaciones de sangre recién recogidas. Es posible que los hallazgos descritos por CHAGAS, lo fueron sobre sangre parasitada no fijada rapidamente y mantenida algún tiempo fuera del organismo infectado, es decir en condiciones mas o menos semejantes a los que originaron nuestra observación.

VIANNA, como consecuencia de sus observaciones, dió en forma concisa y clara el esquema fundamental del ciclo evolutivo del *T.* (*S.*) *cruzi* en los tejidos vertebrados, al decir: "De lo que observamos podemos afirmar que el tripanosoma penetra en la célula, multiplícase por división binaria, rompe la membrana y sale..."

Con posterioridad fué BRUMPT (1912) quien estudió el problema. Este autor consideró las formas anchas, tripanosomas adultos, rechazando en tal forma la teoría sexual sostenida por CHAGAS. En su trabajo dió el esquema del ciclo evolutivo del *T.* (*S.*) *cruzi* que aún permanece inalterado en su manual de parasitología.

El trabajo de MAYER y ROCHA LIMA (1914) constituye la siguiente publicación fundamental. En cortes histológicos de animales infectados estudiaron el ciclo vertebrado del parásito reconociendo los aspectos ya señalados por VIANNA y HARTMANN, es decir las formas leishmanias y las formas flageladas intracelulares. Sin embargo notaron que las formas leishmanias podían presentarse ya redondeadas, ya alargadas en forma de huso.

Describen la transformación de las formas leishmanias en tripanosomas a partir de las formas redondas por desenrollamiento ("aufrollung") en los siguientes términos: "el flagelo se curva y rodea al parásito redondeado, casi como una membrana de quiste y después el parásito se desarolla para formar el parásito definitivo". La descripción está bien ilustrada por figuras que muestran las fases sucesivas. En los parásitos fusiformes, que encuentran ser poco frecuentes, señalaran que primero aparecen formas de critidias y luego tripanosomas, probablemente por migración del blefaroplasto, como en *Trypanosoma lewisi*. Si bien señalan que la mayoría de los focos de multiplicación parasitaria contienen sólo formas leishmanias o sólo formas flageladas, notan que existen conglomerados donde pueden observar-se ambos tipos simultáneamente como ya los había señalado VIANNA.

En cuanto a WENYON (1926) repite los conocimientos expuestos por CHAGAS, VIANNA, BRUMPT, etc. Si bien no da en el texto de su tratado de protozoología una especial referencia a los dos descritos por MAYER y ROCHA LIMA, en la pág. 491 ofrece una figura donde el desarrollo desde la forma leishmania hasta tripanosoma se sigue según dos sistemas de crecimiento: uno en que los parásitos conservan una forma redondeada hasta llegar a tripanosomas y otro con progresivo alargamiento en forma de huso; interpretación obtenida personalmente por WENYON sobre una preparación de frotis de corazón de laucha enviada por el Dr. TEJERA de Venezuela.

Ni la tesis de NIÑO (1929) ni la de DIAS (1934) aportan nueva información al conocimiento del ciclo evolutivo del *Trypanosoma* (*S.*) *cruzi* en el huesped vertebrado; limítanse estos autores a referir las informaciones ya expuestas por CHAGAS, VIANNA, MAYER y ROCHA LIMA, BRUMPT, etc.

En 1935 Kofoid, Wood y Mc Neil publican el primer intento de seguir el ciclo del *T.* (*S.*) *cruzi* en cultivo de tejidos de corazón de embrión de rata y laucha blanca. Estos autores observaron la aparición de los primeros tripanosomas al quinto día de la inoculación bajo la forma de flagelados agrupados en las vecindades de la masa central del preparado. No pudieron practicar observación directa sobre el ciclo de transformación de los parásitos intracelulares.

En 1942 Romaña y Meyer intentan nuevamente cultivo de *T.* (*S.*) *cruzi* en tejidos de embrión de gallina, usando la técnica de gota pendiente. Bajo observación directa pudieron observar la penetración de tripanosomas metacílicos de cultivo en agar-sangre en el interior de fibroblasto y miocitos del cultivo de tejido.

Observaron que los flagelados ya en el protoplasma celular reducen sus movimientos que quedan localizados en la membrana ondulante y el flagelo; 20 horas después hay desaparición de la membrana ondulante â gran acortamiento del flagelo libre. Al mismo tiempo el cuerpo se acorta, volviéndose globuloso. Algunas horas más tarde el parásito se presenta bajo forma leishmanioide. Después de este momento no pudieron seguir por observación directa los tripanosomas por desaparecer estos en el protoplasma celular, con igual índice de refringencia. En preparaciones coloreadas es posible observar que la transformación se acompaña de una migración del blefaroplasto hacia la extremidad anterior del parásito así como la transformación del corpúsculo de redondeado en un bastoncito.

A los tres días se pueden descubrir los parásitos transformados nuevamente en flagelados que denuncian su presencia por el movimiento de sus cuerpos, membranas ondulantes y flagelos.

Los autores refieren otro mecanismo de transformación hacia leishmanioide después que los flagelados han penetrado en las células: vieron que critidias y tripanosomas se enrollan sobre sí mismos sufriendo la evolución hacia leishmanioide en esta posición.

La división binaria fué observada en leishmanioides y también en formas ya flageladas (critidias). Nunca fueron observadas figuras en división múltiple ni tripanosoma en división binaria.

Los autores refieron luego que: "Los movimientos de los flagelados intracelulares son cada vez mas activos hasta que, la célula completamente llena de parásitos, sólo muestra tripanosomas en movimiento. En las láminas coloreadas obsérvase la transformación de las formas critidia en tripanosomas con migración del blefaroplasto hacia la parte posterior del cuerpo, y el desarrollo de la membrana ondulante.

"Al 4.º día ya pueden aparecer algunos tripanosomas libres pero en general es en el 5.º día que se observan los primeros. Pasan al medio externo gracias a la brusca ruptura de la célula que los contiene. En este momento se pueden observar, junto a formas que alcanzaron el desenvolvimiento completo de tripanosomas, otras que todavía están en forma de critidia y aún de leishmanias".

Refieren los autores que los tripanosomas adultos que salen de las células son de dos tipos semejantes a los que se encuentran en la corriente sanguínea de los vertebrados: algunos son finos y largos y otros anchos. Desde el principio observáronse ambas formas en las culturas libres e intracelulares. Los tripanosomas finos muestran un tipo de movimiento de progresión ondulatoria en linea recta semejante a los tripanosomas metacíclicos, mientras las formas anchas tienen movimento sobre sí mismo sin gran desplazamiento del lugar donde se mueven.

También observaron que en ciertas células parasitadas existen formas redondas de leishmanias que rápidamente se transforman en tripanosomas adultos por desarrollo del flagelo sin migración del blefaroplasto, seguido de desenrollamiento del protozoario sin que se pueda observar la fase intermedia de critidia. Aspectos de esta transformación van a ser comentados nuevamente más adelante, en el curso de este trabajo.

Elkeles en 1940, 1942, 1943, 1951, ha sostenido diversas opiniones sobre el ciclo evolutivo del *T.* (*S.*) *cruzi*. Sería difícil seguir en detalle sus trabajos que están fundados principalmente en sus observaciones sobre cultivos "in-vitro" de *T.* (*S.*) *cruzi* lo cual escapa al objeto de nuestro presente estudio. Principalmente Elkeles reactualizó las teorías de multiplicación sexual y esquizogónica sostenida por C. Chagas.

A nuestro critério, la observación mas interesante de su trabajo de 1942 reside en llamar la atención sobre el pasaje directo de formas leishmanias a tripanosomas sin faz intermediaria de critidia como ya lo habían señalado Mayer y Rocha Lima (1914) en cortes histológicos y Romaña y Meyer (1942) en cultivos de tejidos.

Elkeles publica en 1951 un artículo en que reactualiza su argumentación sobre diversos aspectos del ciclo evolutivo del *T.* (*S.*) *cruzi*. En este trabajo sostiene que no puede aceptarse la existencia de una faz critidio-morfa durante el desarrollo del *T.* (*S.*) *cruzi* en vertebrados y que los tripanosomas se forman a partir de las leishmanias redondas sin existencia de una faz critidia, opinión que generaliza a cualquier medio donde se desarrollan formas tripanosomas.

En 1945 Pizzi estudia en perritos jóvenes intensamente parasitados formas evolutivas de *T.* (*S.*) *cruzi* en los tejidos. Halla muchos nidos de flagelados formados por critidias o tripanosomas aisladamente pero en ciertos casos halla juntos, en el mismo conglomerado, ambos estados del parásito.

En 1951, S. F. Wood estudió una raza de *T.* (*S.*) *cruzi* procedente de Arizona que producía intensas infecciones en ratones (*Mus musculus*).

Las lauchas eran sacrificadas y con los órganos se efectuaban preparaciones por "impresión" que secas y coloreadas le permitieron concebir el ordenamiento en que se produce la evolución del *T.* (*S.*) *cruzi* en el huésped vertebrado.

El autor quedó impresionado por la ausencia de formas critidias en las figuras que observó, en desacuerdo con los conocimientos considerados clásicos (Brumpt, Mayer y Rocha Lima, Dias, etc.) quienes siempre señalan la existencia de esta faz flagelada.

Wood llegó a la conclusión de que la forma de leishmania intracelular evoluciona hacia tripanosoma siguiendo dos mecanismos: en el primero, al cual llama "directo", se produce un alargamiento de los leishmanioides fusiformes, con crecimiento del flagelo según el eje longitudinal y desarrollo paralelo de la membrana ondulante. En tal condición el kinetoplasto, colocado desde un principio en la extremidad posterior del parasito, no sufriría la migración señalada por Brumpt, desde la parte anterior hacia la parte posterior del núcleo.

Por este simple proceso de alargamiento el leishmanioide se transformaría en tripanosoma sin pasar por una faz intermedia de critidia.

El segundo mecanismo al cual Wood llama "indirecto", tiene origen en los leishmanioides redondeados ya señalados por Mayer y Rocha Lima. La evolución se realizaría por crecimiento del flagelo alrededor del protoplasma, aparición de una muesca en la parte interior del protozoario y desarrollo de la membrana ondulante y del flagelo libre, con la cual se completaría la formación del tripanosoma. Este mecanismo corresponde a lo que Mayer y Rocha Lima han llamado "aufrollung" y que dichos autores vieron en cortes histológicos.

Wood ilustra con figuras esquemáticas ambos mecanismos evolutivos cuya descripción hemos dado en forma muy sintética, pués el autor entra en numerosos detalles acerca de las transformaciones que sufren las diversas organelas del protozoario.

Wood encuentra un mecanismo de desarrollo "directo" en las figuras 10 a 15 que presenta Wenyon (1926) en la página 491 de su Protozoology, figuras que no concuerdan exactamente con la interpretación dada por el primero, pues Wenyon dibuja una migración del kineplasto hacia la extremidad posterior de acuerdo a la teoría clásica, lo cual envuelve un pasaje por forma critidia, que, como hemos dicho, Wood no acepta en su teoría.

Em 1953 Wood amplió sus estudios de 1951 en un trabajo que pretende, ayudado por métodos hematológicos, seguir la evolución completa del *T.* (*S.*) *cruzi* en el huésped vertebrado, es decir la transformación de tripanosoma en leishmanioide, y da evolución de leishmanioide nuevamente en tripanosomas. A la primera faz, llama desarrollo "regresivo" y a la segunda "progresiva"[2].

El principal elemento de juicio que considera Wood para determinar si un parásito se encuentra en período "progresivo" o "regresivo", reside en la afinidad tintorea del protoplasma; una tendencia basófila significa una evolución "regresiva" y una acentuada afinidad acidofila acompaña al período "progresivo".

---

[2] Con objeto de no crear nuevos términos usaremos en nuestra exposición las palabras aqui empleadas por Wood para referirse a las faces del ciclo del *T.* (*S.*) *cruzi* aún cuando compartimos la opinión de Galliard (1952) quien dice: "... la régression ou rétrogréssion, termes impropres et péjoratifs, puisque après tout, c'est la forme leishmania qui, se multipliant, est la forme noble".

Estas modificaciones tintoreas se acompañarían, cuando la evolución es "regresiva", de: aumento de gránulos de volutina, y vacuolización del protoplasma, arredondeamento del núcleo y aspecto en creciente del cuerpo del parásito.

De acuerdo con estas ideas Wood señala la existencia de tres tipos de tripanosomas en la sangre periférica: "progresivos cortos y finos", "progresivos largos y finos" y "regresivos anchos". Los tripanosomas finos serían más abundantes en la sangre al principio de las infecciones. Al prolongarse la infección disminuyen en número por transformación en tripanosomas anchos más viejos.

El autor explica la formación de las formas por las presiones que sufren los parásitos en células alargadas como las musculares p. ej. lo cual conduce a un desarrollo longitudinal del parásito (método directo de Wood). Si las presiones se realizan en un área oval o redonda el flagelado se desarrolla bajo la forma circular (método indirecto de Wood).

En 1952 Galliard ha publicado un interesante trabajo en que vuelve sobre antiguas observaciones efetuadas sobre un rico material obtenido en lauchas infectadas con *T.* (*S.*) *cruzi*.

Esta raza de tripanosomas tenía la particular característica de multiplicarse intensamente en los músculos de la cintura abdominal y de encontrarse gran quantidad de ejemplares adultos en la cavidad peritoneal y en el líquido edematoso que embebía las mallas del tejido conjuntivo vecino al peritoneo y aún subcutáneo, mientras en la sangre eran escasos o no se encontraban.

Galliard sostiene que el estudio del ciclo evolutivo parasitario en frotis o impresiones de tejidos de acuerdo a como lo realiza Wood, falsea la correcta interpretación del fenómeno, pues no es posible establecer filiaciones ni reducir sucesión de formas existentes en los focos de multiplicación intratisular y en el exudado extracelular, por el sólo hecho de ser las figuras vecinas en los frotis de tejidos. Sostiene que unicamente puede sacarse conclusiones del estudio de los cortes histológicos. Critica en la pag. 82 a quienes ven una doble forma de evolución del *T.* (*S.*) *cruzi* en el huésped vertebrado basándose en el estudio de material obtenido por frotis de órganos diciendo "C'est grâce à cette méthode qu'on a pu décrise deux cicles évolutifs chez le vertébré, ce qui est difficile à concevoir et ne correspond pas à une nécessité biologique, à moins que l'on n'admette l'existence d'un processus sexué, ce que nous garderions bien de faire dans l'état actuel de nos connaissances".

En definitiva Gaillard cree que las grandes diferencias señaladas por diversos autores en la morfología y la evolución del flagelado en el huésped vertebrado serían en gran parte meros artificios de las preparaciones, terminando que: "Par ailleurs, il parait évident qu'une même forme peut être grêle ou large, resistante ou fragile, suivant la technique que l'on emploie".

Después de haber pasado en revista los principales trabajos que han sido dedicados al estudio del ciclo evolutivo del *T.* (*S.*) *cruzi* en vertebrados podemos concluir que los autores mas recientes (ROMAÑA y MEYER, WOOD y ELKELESQ aceptan, en general, las ideas de MEYER â ROCHA LIMA en lo que se refiere a la transformación intracelular de leishmaniodes en tripanosomas, fenómeno que podría ocurrir por uno de los dos mecanismos siguientes: 1) por simple alargamiento del leishmaniode bajo aspecto fusiforme â 2) por desenrollamiento de formas redondas que crecen curvadas sobre sí mismas en los focos de multiplicación intraprotoplasmáticos.

Cuando se refieren a las formas de transición redondas, estos autores están de acuerdo en que el fenómeno se realiza por un desarrollo del fragelo y membrana ondulante alrededor de la masa protoplasmática a la cual circunda sin que exista migración del kinetoplasto. Como consecuencia, haâ un pasaje directo de leishmanioide a tripanosoma sin una faz critidia intercalada.

Cuando la evolución se realiza bajo forma fusiforme, WOOD, sostiene que tampoco existe migración de kinetoplasto y como consecuencia falta igualmente la faz critidia. Entretanto, ROMAÑA y MEYER estudiando la evolución fusiforme, basados en sus observaciones de cultivos de tejidos, sostienen la existencia de una faz critica intermedia entre leishmanioides y tripanosomas.

Es nuestra intención en el presente artículo reconsiderar puntos de vista y tratar de ordenarlos de acuerdo a la información existente y a nuestra experiencia personal .

MATERIAL DE OBSERVACIÓN

Como elemento de observación hemos dispuesto del numeroso material histológico existente en la colección del Instituto de Medicina Regional; de cortes de tejidos de un mono *Callithrix* sp., infectado por vía ocular con deyecciones de *Rhodnius prolixus* (Instituto Pasteur, Laboratorio del Prof. ROUBEAUD, París 1939); de preparaciones de cultivos de tejidos infectados con *T.* (*S.*) *cruzi* y realizados en el Instituto de Biofísica de la Facultad de Medicina de Río de Janeiro (en colaboración con la Srta. H. MEYER) y en el Instituto de Medicina Regional con la ayuda de la Srta. L. SCHEFFLS y por último, con preparaciones de impresiones de órganos de oculto (*Ctenomys tucumanus*) infectados por inoculación de deyecciones de *Triatoma infestans* locales.

La historia del mono *Callithrix* ha sido referida en un trabajo anterior (1939), la técnica de los cultivos de tejidos infectados con *T.* (*S.*) *cruzi* está consignada en el trabajo realizado en colaboración con la Sta. MEYER (1941); la misma forma de preparación de cultivos de tejidos se utilizó en el Instituto de Medicina Regional; en cuanto a las infecciones de *Ctenomys tucumanus,* MAZZA ha señalado la gran sensibilidad de estos roedores para las infecciones por el *T* (*S.*) *cruzi* así como el abundante desarrollo de parásitos tisulares y hemáticos que en ellos puede observarse; otro tanto ocurrió con los animales por nosotros inoculados que nos suministraran frotis de órganos para la observación de los parásitos.

Consideramos que las observaciones realizadas en cultivos de tejidos son fundamentales para seguir el desarrollo intratisular del *T.* (*S.*) *cruzi* pues se reproducen aproximadamente las mismas condiciones existentes en el vertebrado, y, gran parte de la evolución del flagelado puede seguirse directamente bajo el microscopio, en fresco.

Consideramos que las impresiones de órganos y los cortes histológicos no son sino métodos auxiliares que ayudan al método anterior.

PUNTOS DE VISTA DEL AUTOR

De acuerdo a nuestras observaciones en cultivos de tejidos los tripanosomas metacíciclicos de cultivo o los tripanosomas sanguíneos infectantes penetran activamente en el protoplasma de las células y allí se van inmovilizando lentamente en un proceso regresivo que aparentemente se realiza de acuerdo a dos mecanismos diversos: 1) *regresión fusiforme*[3]: el tripanosoma ya en el interior del protoplasma celular, conserva su forma alargada, pierde su movimiento de translación pero continúa agitado por movimientos ondulatorios especialmente a nivel de la membrana ondulante y del flagelo libre. El cuerpo se ensancha y acorta y la parte libre del flagelo se reduce rápidamente de longitud. A las 24 horas tiene ya una configuración de leishmania que no puede diferenciarse, a fresco, del protoplasma celular que la rodea.

En las preparaciones coloreadas se ve que se ha producido una migración del kinetoplasto hacia la parte anterior del protozoario tomando una configuración de barra ligeramente curvada y que el flagelo ha quedado reducido a un pequeño tamaño, siendo siempre visible en las buenas preparaciones. 2) *regresión orbicular*: en nuestro trabajo en colaboración con la Sta. Meyer (1942) la hemos descrito en los siguientes términos: "En numerosas culturas de tejidos infectados con *T.* (*S.*) *cruzi* procedentes de culturas en agar-sangre o de otra cultura de tejido, vimos que critidias o tripanosomas después de penetrar en las células o en el medio externo, se enrollan sobre si adquiriendo en las preparaciones coloreadas, el aspecto de leishmanias. En ciertos casos este fenómeno ocurre 15 minutos después de la contaminación. Hemos

---

[3] Hemos llamado *fusiforme* y *orbicular* las dos formas de evolución regresiva que se observan en el *T.* (*S.*) *cruzi*. Estas designaciones definen morfologicamente el aspecto general del fenómeno sin entrar a considerar los detalles de su desarrollo interno. Estas voces las usamos igualmente al describir las fases progresivas en las cuales Wood emplea las palabras "directa" e "indirecta". Creemos que "fusiforme" y "orbicular" son preferibles pues no se prestan a confusión al no pretender explicar el mecanismo del fenómeno. P. ej., para nosotros, en oposición a Wood, la transformación de leishmanioide en tripanosoma por "desarrollamiento" seria el verdadero mecanismo "directo" pues no existe una faz intermedia de critidia.

El diccionario de la Real Academia Española define "fusiforme" como "de figura de huso" y "orbicular" como "redondo o circular".

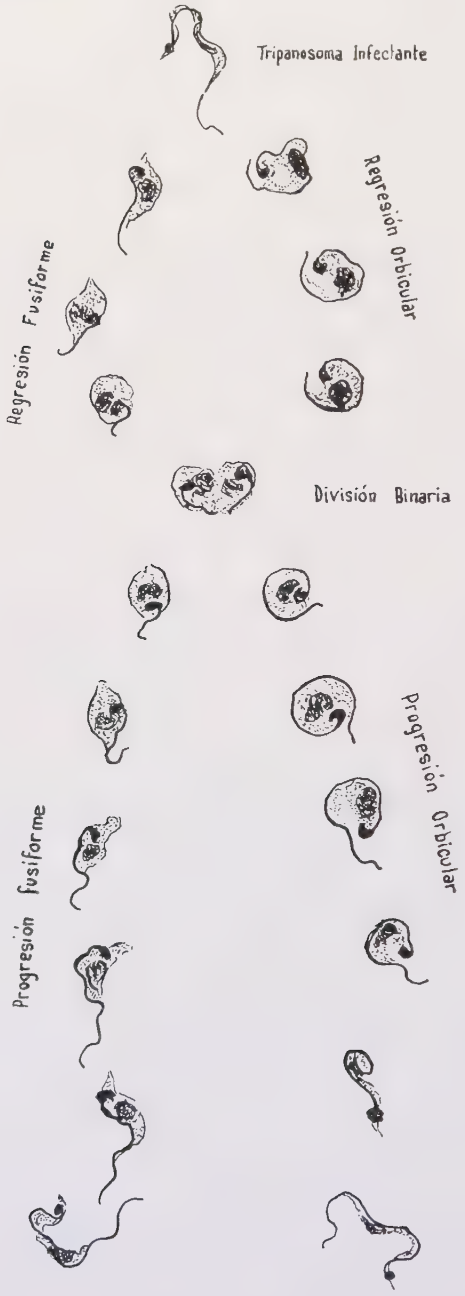


Fig. 1 — Ciclo evolutivo *T.* (*S.*) *cruzi* en los tejidos de vertebrados. Interpretación del Dr. ROMAÑA.

observado también el hecho con tripanosomas originarios de la misma cultura, los que también se enrollan dentro o fuera de las células. Parecería que las formas intracelulares evolucionaran hacia leishmanioides en esta posición enrollada, siguiendo mas tarde el ciclo evolutivo ya descrito. Las formas extracelulares parecen degenerar y mueren".

Una vez que los tripanosomas infectantes se han transformado en leishmanioides en el interior de las células se inicia la multiplicación del parásito por división binaria como lo señalara por primera vez VIANNA.

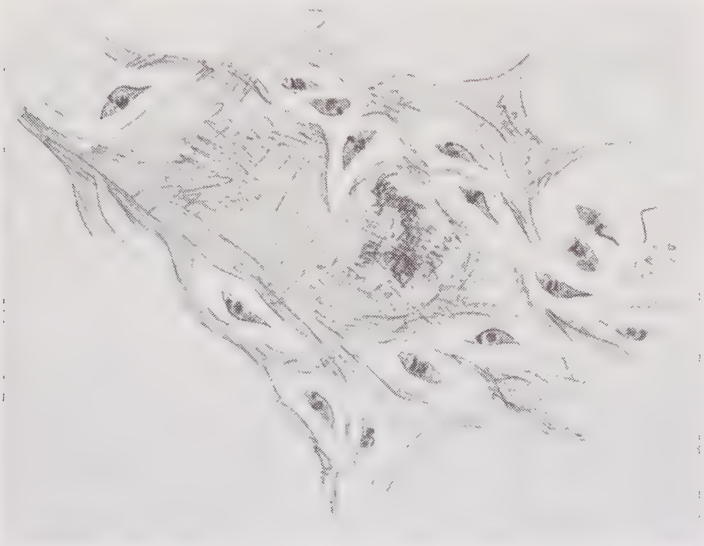


Fig. 2 — Formas fusiformes

En los cultivos de tejidos se nota que este fenómeno se realiza rapidamente, llenándose frecuentemente en sólo 48 horas el protoplasma celular.

H. MEYER observó que el completo rellenamiento del protoplasma marca el comienzo de la acelerada evolución "progresiva" de los leishmanioides hacia tripanosomas.

Como los describen MAYER y ROCHA LIMA y lo han confirmado ROMAÑA y MEYER y también WOOD, esta evolución se puede realizar por dos mecanismos simultáneos: 1) la "progresión" por alargamiento y 2) "progression" por desenrollamiento, fenómeno a los cuales por analogía con lo que ocurre en la faz regresiva llamaremos *progresión fusiforme* y *progresión orbicular*.

Progresión fusiforme: Una vez lleno el protoplasma celular con las formas leishmanioides, estas comienzan a alargarse en el sentido del eje longitudinal con crecimiento del flagelo y desarrollo de la membrana ondulante. Es en este momento que el protozoario adquiere una configuración semejante a critidia con el kineplasto en situación antenuclar, configuración que sólo dura poco tiempo pués la migración del kinetoplasto hacia la parte posterior del núcleo cambia el aspecto del parásito que se aproxima a la forma tripanosoma.

Wood señala que la evolución progresiva va acompañada de un cambio en la afinidad tintorea de los parásitos cuyo protoplasma se hace acidófilo.

Progresión orbicular: En forma simultánea con la "progresión fusiforme" se realiza, en ciertos elementos leshmanioides el desarrollo bajo forma "orbicular". En este caso los leishmanioides redondeados desarrollan el flagelo que circunda casi completamente el protoplasma del parásito. El flagelo crece luego fuera del cuerpo arrastando una porción de protoplasma que forma la membrana ondulante. Estando el parásito siempre enrollado se forma una muesca en su porción interna, muesca que progresando termina por dar forma alargada al cuerpo del tripanosoma, que, sin embargo, siempre se mantiene en la misma posición.

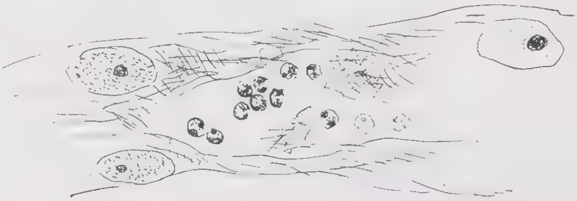


Fig. 3 — Miocardio. Formas orbiculares.

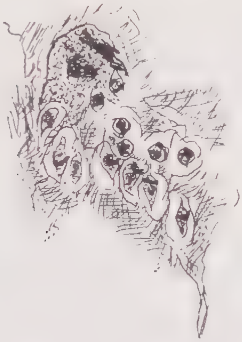
En todo el proceso el kinetoplasto no cambia de situación, permaneciendo en la parte del parásito que será más tarde, la extremidad posterior.

Dicha organela tampoco cambia mucho de forma pués en los leishmanioides redondeados el kinetoplasto no tiene la configuración en bastoncito que se halla en los fusiformes, sinó la forma en poroto o la redondeada que se encuentra en los tripanosomas que han llegado a su formación completa (Wood).

Las diferentes faces del ciclo evolutivo anteriormente descrito han sido esquematizadas en el dibujo de la fig. N. 1, y se cumplen como es conocido (Dias, Kofoid, Wood y Mac Neil, Romaña y Meyer, etc.) en un período de 4 a 6 días.

En las células parasitadas, por lo general se ven agrupadas sólo formas "fusiformes" (fig. 32) o sólo formas "orbiculares" (fig. 3, como si la multiplicación se hiciera separadamente, aún en la misma célula. A veces sin embargo están mezcladas ambas formas en disposición irregular (fig. 4).

En general se observa que la mayoría de los individuos de una camada de parásitos desarrollada en el protoplasma de una célula, se encuentran aproximadamente en el mismo período evolutivo, sin embargo cuando la camada llega a la forma tripanosoma es frecuente ver que, un cierto número de indivíduos están atrasados en su evolución permaneciendo en estado de critidia y aún de leishmanioide.



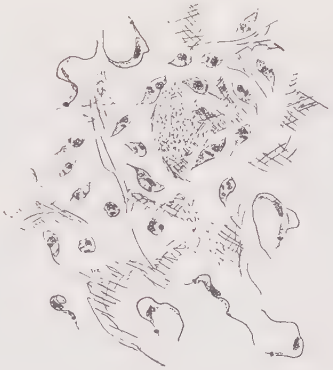


Fig. 4 (a esquerda) — Bazo; fig. 5 — Parte de los elementos parasitarios originarios de um fibroblasto recién rompido.

Ya Vianna observó que no todos los individuos de una camada se encuentran en el mismo período evolutivo, aún cuando la mayor parte lo esté. Decía Vianna: "Llegado a cierto punto de plenitud, esto es, cuando el sarcolema no puede contener más los esquizotripanos desarrollados en su interior se produce ruptura en algún punto del elemento anatómico, y, parásitos, algunos todavía redondos, otros ya flagelados, son lanzados en los interstícios de las fibras musculares".

En la fig. 5, es posible ver parte de los elementos parasitarios que han tenido origen en un fibroblasto de cultivo de tejidos que acaba de romperse. Se observan restos del núcleo, junto a detritus protoplasmáticos, además "leishmanioides fusiformes" y "orbiculares" en distinto estado evolutivo y algunos tripanosomas ya completamente desarrollados (cultivo de tejido de embrión de pollo; coloración con hematoxilina férrica).

No obstante nuestro particular interés de poder establecer en los cultivos de tejidos si los dos tipos de progresión observados están relacionados con las dos clases de tripanosomas hemáticos, es decir los finos y los anchos, hasta ahora no hemos podido encontrar la correcta filiación de estos tripanosomas.

Sin embargo nos parece que las formas anchas son originarias en la "progresión fusiforme" y las finas en la "progresión orbicular".

RESUMEN

El autor pasa en revista los trabajos publicados sobre el ciclo evolutivo del *Trypanosoma* (*S.*) *cruzi* en el huésped vertebrado, desde el descubrimiento de la enfermedad hasta nuestros días.

Luego analiza las ideas de los autores modernos, fundadas en gran parte en las observaciones que ya en 1914 realizaron MAYER y ROCHA LIMA de las cuales participan actualmente ROMAÑA y MEYER, ELKELES y WOOD.

Finalmente expressa que a partir de los tripanosomas infectantes los parásitos que penetran en el protoplasma celular pueden seguir dos mecanismos en su evolución hacia cuerpos leishmanioides:

1.º) Por "regresión fusiforme" y 2.º) por "regresión orbicular"; llegados a la forma leishmanioide los parásitos se multiplican por división binaria, una vez lleno el protoplasma celular, siguen un proceso inverso de transformación hacia tripanosoma que puede seguir igualmente dos mecanismos diversos: 1.) "progresión fusiforme" y 2.º) "progresión orbicular". Estos diversos mecanismos de transformación están esquematizados en la fig. N.º 1 del trabajo.

SUMMARY

The author reviews the published works about the evolutive cycle of the *Trypanosoma cruzi* in the vertebrate host, from the discovery of the disease to our days.

Then, he analyzes the ideas of the modern authors who based themselves on the observations made formerly, in 1914, by MAYER & ROCHA LIMA, ideas that ROMAÑA and MEYER, ELKELES and WOOD agree at the present time.

Last, he states that, from the infective trypanosomas, the parasites which enter the cellular protoplasma may follow two systems to perform their evolution up to leishmanioid bodies: 1.º) by fusiform regression, 2.º) by an orbicular regression. Once the parasites reach the leishmanioid forms, they multiply by binary division. When the celular protoplasm is filled up with the parasites, these follow an inverted transformation up to trypanosoma state, following also two systems; similar to the repression 1.º) a fusiform progression, 2.º) an orbicular progression.

The mechanism of the different transformations is sketched in figure N.º 1 in the work.

BIBLIOGRAFIA

BRUMPT, E. — 1912. Le *Trypanosome cruzi* évolue chez *Conorhinus megistus, Cimex boueti et Ornithodorus moubata* — Cycle évolutif de ce parasite. Bull. de la Société de Path. exotique, pág. 360.

CHAGAS, C. — 1909. Nova tripanosomiase humana. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz 1 (3), 159-218.

CHAGAS, C. — 1911. Nova entidade mórbida do homem· Resumo general de estudos etiológicos e clínicos, Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 3 (2), 219-275.

DIAS, E. — 1934. Estudos sôbre o *Schizotrypanum cruzi*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 28 (1), 1-110.

ELKELES, C. — 1942. Investigaciones sobre el ciclo evolutivo del tripanosoma cruzi. La Semaña Médica. 49 (27), 1-16.

ELKELES, G. — 1943. Enfermedad de Chagas. Consideraciones críticas acerca de los conceptos actuales sobre el mecanismo de su transmisión al hombre y sobre el ciclo evolutivo de *Trypanosoma cruzi*. La Semana Médica. 50 (29), 178-186.

ELKELES, G. — 1951. On the life of *Trypanosomes cruzi*. The Journal of Parasitology. 37 (4), 379-386.

GALLIARD, H. — 1952. Recherches sur le cycle évolutif de *Trypanosoma cruzi* Chagas. À propos de l'infestation péritonéale exclusive chez la souris. 27 (1-2-3), 63-85.

HARTMANN, M. — 1910. Notiz über eine weitere Art der Schizogonie bei *Schizotrypanum cruzi* (Chagas). Arch. Protist. 20: 361-363.

KOFOID, C. A., WOOD, T. O. y MC. NEIL, E. — 1935. The cycle of *Trypanosoma cruzi* in tissue culture of embryonic hearthmuscle. Zoology. 41 (3) 23-24.

MAYER, M. y ROCHA LIMA, H. — 1914. Zum Verhalten von *Schizotrypanum cruzi* in warm Blütern und Arthropoden. Arch. Schiffs u. Tropen Hyg. 18: 101-136.

NIÑO, F. L. — 1929. Contribución de la enfermedad de Chagas. Tesis. Imprenta de la Univ. de B. Aires 1-129.

PIZZI, T. — 1945. Algunos aspectos de la enfermedad de Chagas experimental. Biológica. III. 53-68.

ROMAÑ, C. y MEYER, H. — 1942. Estudo do ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* em cultura de tecidos de embrião de galinha. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 37 (1). 19-27.

VIANNA, G. — 1911. Contribuição para o estudo da anatomia patológica da molestia de Carlos Chagas. 3 (2). 276-294.

WENYON, C. M. — 1926. Protozoology. London, Bailiere, Tyndall and Cox. 1-1 563.

WOOD, S. F. — 1951. Development of Arizona *Trypanosoma cruzi* in mouse muscle. The Amer. Journ. of Trop. Med. and Hygiene. 31 (1), 1-8.

WOOD, S. F. — 1953. Hemologic differentiation of the intramuscular developmental forms of *Trypanosoma cruzi* Chagas. The Amer. Journ. of Trop. Med. Hygiene. 32 (6), 1 015-1 034.

Evolutionary aspects of Myxomatosis in Australia*

Frank Fenner
Department of Microbiology, John Curtin School of Medical Research,
Australian National University, Canberra, Australia.

INTRODUCTION

Myxomatosis was first recognized in Montevideo, Uruguay, in 1896 by Sanarelli. During the next twenty years Brazilian workers, notably Dr. H. BEAUREPAIRE ARAGÃO and Dr. A. MOSES, produced detailed accounts of the symptomatology and pathology of the disease in laboratory rabbits and Dr. S. TORRES demonstrated that it was transmited by mosquitoes. In the course of his researches Dr. ARAGÃO was so impressed with the very high lethality of the disease, and its specificity for the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) that in 1918 he suggested to the Australian Government that it might be useful in combatting the rabbit plague in Australia. Prolonged correspondence followed, and after initial difficulties a specimen of the virus was successfully transported to Sydney, New South Wales, and in 1926 this was tested by officers of the Department of Agriculture of the State. The initial experiments led the Australian workers to believe that it would not spread successfully from one warren to another, and little further work was carried out in Australia for about ten years.

In 1933 Dame (then Doctor) JEAN MACNAMARA persuaded the Australian Government to resume the study of myxomatosis as a method of rabbit destruction; and Sir CHARLES MARTIN, who had recently retired from the directorship of the Lister Institute in London, undertook intensive studies in Cambridge. His report (1936) was the basis of subsequent Australian work, and following its publication the Council for Scientific & Industrial Research of Australia (C.S.I.R.) brought the virus from Cambridge to Melbourne. Dr. L. B. BULL undertook studies relating to the specificity of the disease and its mode of spread; and made field trials in arid pastoral country in South Australian. The

---

* Recebido para publicação a 31 de Outubro de 1955.

war interfered with this work after 1942 but in 1949 field experiments were extended by the C.S.I.R. (now the Commonwealth Scientific & Industrial Research Organization — C.S.I.R.O.) in well- watered areas of the Murray Valley. Intensive efforts to establish the virus in the Australian rabbit population, carried out by the newly formed Wildlife Survey of C.S.I.R.O., under the leadership of Mr. F. N. Ratcliffe, eventually succeeded, and in the summer of 1950-51 the disease spread with amazing speed over the greater part of the Murray-Darling basin of south eastern Australia. The first outbreak was confined to the environs of rivers and creeks, but later summer outbreaks carried the disease throughout the rabbit-infested areas of south eastern Australia.

THE EVOLUTION OF MYXOMATOSIS IN AUSTRALIA

In this paper I will attempt to synthesize information on the evolution of the virus, the rabbit, and the product of their interaction, the disease, in the five years that have elapsed since the introduction of this new, highly lethal virus into the vast population of fully susceptible host animals. Before doing that it is necessary to refer again to an investigation by Dr. Aragão. The natural history of myxomatosis in South America had always been obscure, and for forty years the disease was recognized only by sporadic highly fatal outbreaks indomestic or laboratory rabbits. In 1942 Dr. Aragão published papers which described two major discoveries, namely that myxomatosis survived in nature in South America as a benign tumour-producing disease of the tapeti (*Sylvilagus minensis* syn. *braziliensis*), and that it could be transferred from the wild rabbit to other tapetis, or to laboratory rabbits, by mosquitoes. He further showed that in all probability mosquito transmission was mechanical in nature.

Apart from its practical value in reducing the ravages of Australia's most serious pest, the rabbit, the occurrence of myxomatosis offered a unique opportunity to study the adjustments of host and parasite which might follow the introduction of a high lethal new disease into a large and widespread population of mammals. This opportunity was seized in a collaborative study carried out by three groups of. workers in C.S.I.R.O. (Wildife Survey Section, Division of Entomology, and Section of Animal Genetics), and the Department of Microbiology of the Australian National University; and the present interim report summarizes the changes which have been recognized so far. There is ample evidence that the final balance has not yet been attained, but important trends have now become apparent.

To study evolutionary changes in a virus and its animal host is necessary to use techniques which will allow the independent examination of these two components. Virus strains can be tested in rabbits of reasonably uniform genetic makeup, of a uniform age, and in a uniform physiological condition. Laboratory rabbits fulfil these requirements. Changes in the genetic resistance of rabbits exposed to myxomatosis can be studied by planned breeding experiments, or by periodic testing of suscetible wild rabbits obtained from localities in which the parent population has been universally infected with myxomatosis, using a stable preparation of virus which has a uniform and constant virulence for unselected (laboratory) rabbits.

CHANGES IN THE VIRULENCE OF THE VIRUS

Soon after myxomatosis became widespread in Australia there was evidence that changes were occurring in the case-mortality rate. Since the evidence from the field suggested that the initial change was from over 99.5% to 90% the problem arose of comparing two strains of virus of such high virulence. As mosquito bite infection was by far the most important mode of natural infection in Australia, it was decided to mimic this by inoculating viruses of known and unknown virulence intradermally, in doses of 5-10 rabbit-infectious particles. It was not possible to compare the mortality rates associated with different virus strains, for the numbers of rabbits required to detect significant differences would be proibitive. The symptomatology and survival times of rabbits infected with small doses of different strains of virus, inoculated intradermally, were therefore compared and considerable and reproducible differences were found in both. The easiest to measure was the survival time, and experiments were therefore conducted with a few selected strains to see how accurately differences in the survival times reflected differences in the mortality rates. The results are summarized in Table I and provide a basis for using the survival time of rabbits infected in a uniform manner as a measure of the lethality, or virulence, of different strains of virus.

TABLE 1.

COMPARISON OF THE MORTALITY RATES AND AVERAGE SURVIVAL TIMES OF RABBITS INOCULATED INTRADERMALLY WITH SMALL DOSES (10 ID_{50}) OF THE VIRULENT STANDARD LABORATORY STRAIN AND THE SLIGHTLY ATTENUATED KM13 STRAIN OF MYXOMA VIRUS. SURVIVORS ALLOTED A SURVIVAL TIME OF 60 DAYS.

NUMBER OF RABBITS	STRAIN OF VIRUS	MORTALITY RATE	AVERAGE SURVIVAL TIME	
			ALL RABBITS	FATAL CASES ONLY
34	standard	100%	10.9 days	10.9 days
180	KM13	81%	28.0 "	24.0 "

By this means it was possible to examine the virulence of fifty eight strains of virus recovered from the field in Australia, as well as three strains from South America, two from California, and fifteen from

Europe. The results are shown in Tables 2 and 3. It is clear that attenuated strains appeared quite early all over Australia. For exemple the first epizootic at Lake Urana in southern New South Wales occurred in October-November, 1951. It was caused by the fully virulent virus inoculated into rabbits there, and was associated with a case mortality rate greater than 99.5%. A second epizootic, wich occurred spontaneously a year later, was characterized by a case mortality rate of 90%, and 8 strains of virus recovered from mosquitoes or rabbits were all associated with survival times of about 20 days (compared with 11 days for the fully virulent strains). Myxomatosis first ocurred at Dunroy, in northern New South Wales, in March 1951. Virus recovered from there in May 1952 was definitely attenuated, the mean survival time being 21 days. This pattern, the emergence and establishment

TABLE 2.

THE MEAN SURVIVAL TIMES OF GROUPS OF FIVE RABBITS INFECTED BY THE INTRADERMAL INOCULATION OF SMALL DOSES (10 ID_{50}) OF STRAINS OF MYXOMA VIRUS USED FOR DISTRIBUTION IN THE FIELD IN AUSTRALIA AND ISOLATED FROM NATURALLY INFECTED CASES IN THE FIELD DURING THE LAST FIVE YEARS.

ORIGIN OF VIRUS	MEAN SURVIVAL TIME		
	15 days	15—30 days	30 days
Virus for distribution	1		
C.S.L.	1		
Glenfield	1		
I.M.V.S.	1		
Virus recovered from field			
1950—1	1	0	0
1951—2	5	0	0
1952—3	1	18	1
1953—4	4	11	2
1954—5	3	12	0
TOTALS — field recoveries	14	41	3

TABLE 3.

THE MEAN SURVIVAL TIMES OF GROUPS OF FIVE RABBITS INFECTED BY THE INTRADERMAL INOCULATION OF SMALL DOSES (10 ID_{50}) OF STRAINS OF MYXOMA VIRUS RECOVERED FROM SOUTH AMERICA, CALIFORNIA AND EUROPE.

ORIGIN OF VIRUS	MEAN SURVIVAL TIME	
	15 days	20—30 days
Brazil	3	0
California	2	0
Europe		
1952 (inoculated)	1	0
1953	3	0
1954	7	0
1955	2	2

of slightly attenuated strains, in spite of widespread inoculation campaigns in which the fully virulent virus was used, was almost universal in Australia.

In Europe, on the other hand, the virulence appeared to be much more stable, a fact which is accentuated by the absence of artificial reintroduction of a fully virulent strains of the virus. The first attenuated strain to be recovered, from the department of Loiret, was obtained in April 1955; two years after the first appearance of the virus in that area.

Another feature of interest has been the failure of more attenuated strains of still lower virulence to spread. Ocasional recoveries have been made of strains associated with mean survival times of 30-40 days, and mortality rates of about 70%. Although the first such strain was recovered in February, 1953 (Uriarra strain of Dr. MYKYTOWYCZ), it was subsequently replaced in that area by a less attenuated strain which resembled the KM13 type.

CHANGES IN THE GENETIC RESISTANCE OF RABBITS

The possibility that the genetic resistance of rabbits may be altered by the selective action of myxomatosis is being investigated from two aspects. Members of the Animal Genetics Section of C.S.I.R.O. are conducting extensive breeding experiments on lines of rabbits selected for high resistance to myxomatosis, using one of the slightly attenuated Australian field strains of virus. No results are available yet from this work, but it promises to give accurate information on the degree of hereditability of genetic resistance, and on the rapidity with which a high degree of resistance, and on the rapidity with which a high degree of resistance can be built up.

The other approach is based upon tests of wild rabbits from various parts of Australia where the epizootic history is accurately known. In the areas selected, the principal one being Lake Urana in southern New South Wales, epizootics occur each summer. After the epizootics the relict population has been sampled serologically to determine the proportion of recovered animals. In the areas used this has been almost 100%. During the following spring, when the progeny of these animals are a few weeks old an are leaving the burrows, they are captured and reared in the laboratory until they are about four months old. In this way a group of young rabbits can be assembled which are the offspring of parents which have recovered from myxomatosis, and which are themselves old enough to have lost any antibody acquired from the mother, and to give an adult reaction to infection with myxoma virus. These rabbits are then challenged with a slightly attenuated Australian field strain of the virus, a single preparation stored at —70°C being used throughout all the experiments. So far it has been possible to test no more than a "normal" wild rabbit population, reared in the laboratory from animals which had never been exposed to myxomatosis, and groups of rabbits from areas which have undergone one, two or three epizootics. Nevertheless, the evidence obtained is highly suggestive. Whether based on mortality rates or survival times, it seems certain that the rabbit population left after three severe epizootics is genetically more resistant than the original population.

It is important to note that all challenge experiments have been made with an attenuated strain of virus, for this allows the expression of minor degrees of genetic resistance which would be obscured if the highly virulent standard laboratory strain of virus were used. The design of the experiments precluded the confusion of genetic resistance and acquired immunity of the immunological kind.

THE TRANSMISSION OF MYXOMATOSIS

It has been clearly established that in Australia the major epizootics of myxomatosis are due to the activity of mosquitoes, and detailed laboratory studies have fully confirmed ARAGÃO's contention that mosquito transmission is mechanical in nature, and that the important source of virus for the mosquitoes is the skin lesions.

From the point of view of natural selection of the virus, the dominant feature of the host-parasite relationship is the transmissibility of the virus by mosquitoes. It is rather difficult to reconstruct the process by which a mutant strain of virus, of lowered virulence, becomes established in the rabbit population. We know that there is an irregular infection of cells in the superficial layers of the skin, and that usually the clone of virus particles in one cell arises from a single virus particle which infects the cell. If we imagine that this infecting virus particles is the one in million particles which has undergone a mutation, occasionally a probing mosquito may become infected with the progeny of this mutant strain of virus, and with no other virus particles. It may then infect one or several susceptible rabbits with this mutant strain. If the mutation is, as is almost certainly the case, of diminished virulence, the infected rabbits will live longer than those infected with fully virulent strains. At the end of the transmission season the only infected rabbits left may be those bearing the mutant strain, which may then die out, or may persist through the winter, perhaps by contact infection. With the onset of the next mosquito transmission season this mutant strain may be widely spread.

In Australia the situation has been complicated by the extensive and very large scale inoculation campaigns which have been conducted each year. In these the fully virulent laboratory strain has been used, and attempts are usually made to spread the inoculations over the expected period of mosquito transmission. We are better informed on the results of competition between an attenuated and a virulent strain of virus than we are on the actual emergence of an attenuated mutant strain. We know that the skin titre, and the transmissibility of all the common Australian field strains, and of the European strains are the same. Of the virus strains tested only the grealy attenuated neuromyxoma variant, which is rarely fatal after the intradermal inoculation of small doses of virus, multiplies to such low titre in the skin as to render mosquito transmission difficult. If the skin titres attained by the slightly attenuated strains are much the same as those found with the fully virulent strains other features of the disease must dominate the competition for transmission. The obvious one is the period of infectivity of an infected rabbit, and it is in this feature that the slightly attenuated strains are in an advantageous position. Rabbits infected with the standard laboratory strain become infectious for mosquitoes about five days after they are infected, and are usually dead five days later. Rabbits infected with a slightly attenuated strain become infectious about the same time, but may be highly infectious for mosquitoes for a much longer period — an average of about twenty five days. Further, during much of this period they are very sick, and will not disturb mosquitoes attempting to feed on them. With greater degrees of attenuation healing of skin lesions occurs even in rabbits which eventually die, and the period of infectivity then terminated by the fall in skin titre which accompanies healing of the lesion. The important features of several virus strains, from the viewpoints of virulence and transmissibility, are shown in Table 4.

TABLE 4.

THE PRINCIPAL CHARACTERISTICS OF SIX STRAINS OF MYXOMA VIRUS.

STRAIN OF	ORIGIN	Mean survival time (days)	First signs of generalization (day)	Eyes completely closed (day)	Field mortality rate	Period of infectivity (days)
Standard............	Initiated Australian epizootics.......	11	6—7	9—11	99%	5
Neuromyxoma......	Laboratory variant.................	all survive	6—7	never	0	0
MK13.............	Australian field strain (attenuated)	23	6—8	14—18	90%	30
Uriarra.............	Australian field strain (attenuated)	38	6—7	11—12*	60%	12
Lausanne...........	Initiated European epizootics........	13	6—7	9—11	99%	7
Loiret 55...........	European field strain (attenuated)....	27	7—8	17*	90%	30

* eyes sometimes do not close completely.

FUTURE TRENDS IN THE HOST-PARASITE BALANCE IN MYXOMATOSIS IN AUSTRALIA

In 1955, five years after the introduction of myxomatosis into Australia, we can list three features of major importance in determining changes in the host-parasite balance. Firstly there is a strong selective advantage for a disease which combines extensive skin lesion bearing large amounts of virus with prolonged survival of the rabbit, preferably in a sick condition. This situation may be attained in two ways. In the first few years of myxomatosis in Australia the rabbit population was uniform by very highly susceptible, and the type of disease just described was produced by the emergence of attenuated strains of the virus. Now, however, there has been a trend towards increased genetic resistance in the rabbit population, at least in areas where annual epizootics occur. It must be emphasised here that there are very large areas of rabbit-infested land in Australia where only one or two outbreaks have occurred, so that the changes to be described may be deferred for several years in these areas. If one can legitimately extrapolate from the available data obtained from areas subjected to severe epizootics each year, it can be predicted that the motality rate of rabbits in these areas, where they are infected with the slightly attenuated strains of virus at present dominant in Australia, will reach a level of 50% after a further 3-5 years. But the situation is not simple, for it is possible that in such resistant rabbits infection with the highly virulent standard laboratory strains would cause a disease resembling that due to the slightly attenuated virus in a fully susceptible populaation, and the selective advantage would then swing to the highly virulent strain. It is possible but not certain that resistance to the now dominant highly virulent strain would also become progressively greater, so that in time even the most highly virulent strain (for laboratory rabbits not subjected to selection) might cause a mortality of 50% of less.

LESSONS TO BE LEARNT FROM SOUTH AMERICA

In the previous section I have discussed evolutionary trends in Australia, as we see them five years after the introduction of the disease into the wild rabbit populations. It is not inconceivable, however, that some of the answers we seek may be immediately available from surveys made in South America. Perhaps the situation may best be summed up by posing a number of questions.

(1) What is the natural history of myxomatosis in *Sylvilagus*, and in particular, how does the disease over-winter? Does prolonged mild disease due to infection of young animals play the part here that KILAM suspects it does in fibroma of cottontail rabbits in North America?

(2) What is the geographical range of myxomatosis of *Syvilagus* in South America? Is the diesase coexistensive with the rabbit?

(3) What is the explanation of the occasional outbreaks of myxomatosis in European rabbits in places like Montevideo (1896 and 1947)?

(4) Has myxomatosis been the controlling influence which has prevented the colonization of parts of South America apparently favourable for *Oryctolagus*? What is the status, as far as genetic resistance to myxomatosis is concerned, of the wild *Oryctolagus* rabbits which occur at the southern border of *Sylvilagus* occupation, as in Northern Uruguay?

(5) What is the pathogenic behaviour in *Silvilagus* of strains of myxoma virus which are attenuated in their virulence for *Oryctolagus*?

Such questions present a challenge to scientists in South America. Myxomatosis was a disease of the tapetis of Brazil which occasionally ravaged colonies of domestic rabbits, as ARAGÃO showed thirteen years ago. Now it is a disease of four continents, South and North America (California), Autralia and Europe. And in the latter two continents it has undoubtedly caused the most destructive outbreaks of any infectious disease of mammals, and has killed more animals in a shorter time than any other disease known to man.

Contribuição para o conhecimento das doenças do grupo tifo exantemático no Brasil*

Octavio de Magalhães

(Com 2 quadros, 6 gráficos e 13 fotografias)

As doenças do grupo Tifo exantemático são representadas, no Brasil, pelas seguintes formas até agora bem equiparadas:

1.º — Tifo exantemático neotrópico	Goiás Minas Gerais Rio de Janeiro São Paulo
2.º — Tifo murino	Minas Gerais Rio de Janeiro Rio Grande do Sul São Paulo
3.º — Febre "Q"	Minas Gerais Rio de Janeiro São Paulo
4.º — Segundo Alves Meira .... *et al*. Molestia de Brill	São Paulo

O fim supremo dos estudos médicos, sob qualquer dos aspectos que os encaremos, é evitar as doenças e curar os doentes. Nem visa outro escôpo o estudo aprofundado das entidades mórbidas, pelo qual é possível atingir àquele ideal.

O tifo exantemático —, pelos conhecimentos a que chegamos, é um problema médico resolvido, profilática e terapêuticamente. Mas não custa dizer alguma coisa sôbre aquilo que nos pareceu a verdade, no nosso longo, contínuo e tenaz esfôrço de cêrca de 20 anos de observações e pesquisas. Procuramos esclarecer, lenta mas seguramente, vários capítulos dêsse importante grupo de doenças, principalmente na parte que se refere ao nosso país. A Monografia n.º 6 do Instituto Oswaldo

---

* Trabalho do Centro de Estudos do Instituto Oswaldo Cruz em Belo Horizonte e do Laboratório de Fisiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais — Julho de 1955.

Cruz sintetiza bem quase tudo o que fizemos. Repetimos quase tudo, pois a demora na sua publicação obrigou-nos a publicações parceladas e a novos trabalhos complementares daquelas pesquisas.

Em trabalhos sucessivos, demonstramos que existe, entre nós, o Tifo exantemático neotrópico nos Estados de Minas Gerais. Em São Paulo. Rio de Janeiro: outros apuraram e já agora, também o encontrei em Goiás.

Temos a impressão que, com o tempo e maior densidade de população nas zonas rurais, a doença se estenderá a outros estados do Brasil, se não houver uma profilaxia racional e extensa da enfermidade. É bem possível que, existindo em outras unidades do Brasil, como em Minas Gerais, há mais de um século, tenham passado com diferente rótulo para os dados estatísticos. Assinalamos, também, agora em 1955, como já fôra feito em São Paulo pelo prof. Helvécio Brandão e outros colegas, a chamada febre "Q", que faz parte do grupo Tifo exantemático.

O Tifo exantemático murino apuramos pela primeira vez, em ratos em Belo Horizonte, em 1943 e, após, em Ouro Prêto, em maio de 1949, aqui em casos humanos.

Êste último trabalho foi enviado para publcação no *Brasil Médico* em 1953 e só foi publicado naquela revista em fevereiro de 1954. Havíamos enviado, anteriormente, uma "Nota Prévia" para aquela revista, em colaboração com o Dr. Adyr Rocha, referente aos casos humanos de Tifo murino em Ouro Prêto (maio de 1949, Brasil Médico, 6 e 13 de agôsto de 1949).

A DENOMINAÇÃO

Mantemos ainda hoje a designação de "Tifo exantemático neotrópico no Brasil", para a primeira doença cujo virus insulamos em 1933, atendo-nos a tão velha e discutida divisão zoogeográfica do mundo. Vamos mostrar por que assim o fazemos, menos por teimosia, que não é do nosso feitio, senão por convicção científica profundamente arraigada. Não importa que continuem no êrro aquêles que querem chamar o doença de "Febre maculosa", denominação que se presta a várias confusões. Enganam-se duplamente. Primeiro, já o disse, discutindo o assunto amplamente na Monografia n.º 6 do Instituto Oswaldo Cruz, o exantema da doença é profundamente polimorfo, e não monomorfo. A doença não é só maculosa; é exantemática, o que é coisa absolutamente diferente e muito mais complexa. Não iria repisar aqui a questão.

O segundo engano, e êsse irrespondível, é o de dar nome novo, quando êles consideram a doença brasileira igual à das Montanhas Rochosas dos EE.UU.. Seria a mesma coisa que dar nomes diferentes ao "Cholera morbus", à "Peste bubônica", à "Váríola", à "Difteria", etc., quando observadas no Brasil...

Seria mais razoável, embora ainda anticientífico, como faz em trabalho recente Attilio Macchiavello, chamar a doença de Rocky Mountain Spotted Fever, em todo o Continente, sob o título de Febre Exantemática Maculosa Americana.

Isto também não resolve a parte científica do problema. Primeiro, porque incorre no êrro já citado, isto é, chamar de maculosa a doença; segundo, porque ela tem uma extensão considerável, ocupando tôda a região neotrópica, inclusive a Índia, segundo já foi apurado. Seria o mesmo que chamar "Diença de Chagas" de Tripanosomíase de Lassance...

Muito mais científica é a designação de "Neo-Tropical", com o clássico nome de "Tifo exantemático", acrescentando-se o País onde ela se encontra, de acôrdo com as variedades locais: Brasil, Índia, Colômbia, etc.

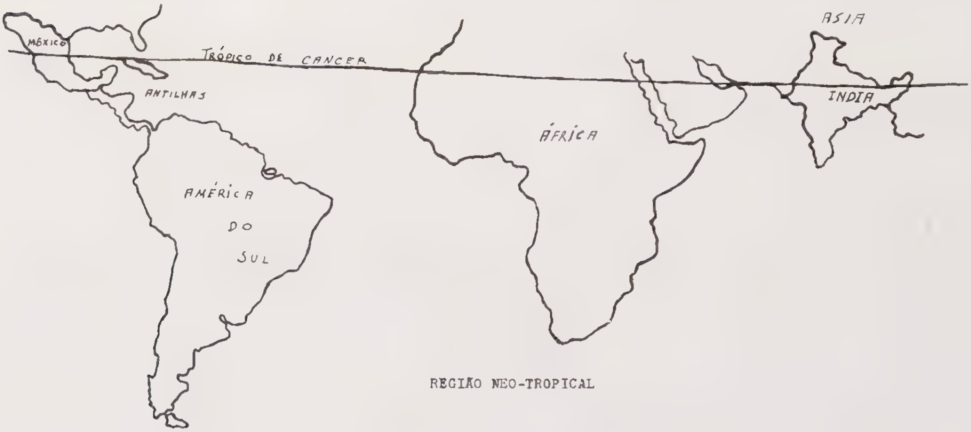
Os trabalhos de P. L. SCLATER (1857), TH. HUXLEY (1868) e R. R. WALLACE (1876) constituíram realmente a base para os trablhos de zoogeografia da atualidade.

A. R. WALLACE fazia compreender a região Neotropical, a Chilena, Brasiliana, Mexicana e Antilhana. A Enciclopédia Americana (ob. cit.) dá a definição de Região Neotropical, "Neotropical Region, the American Continent South of the Line, Together With the West Indians Islands, sometimes called Neogaea".

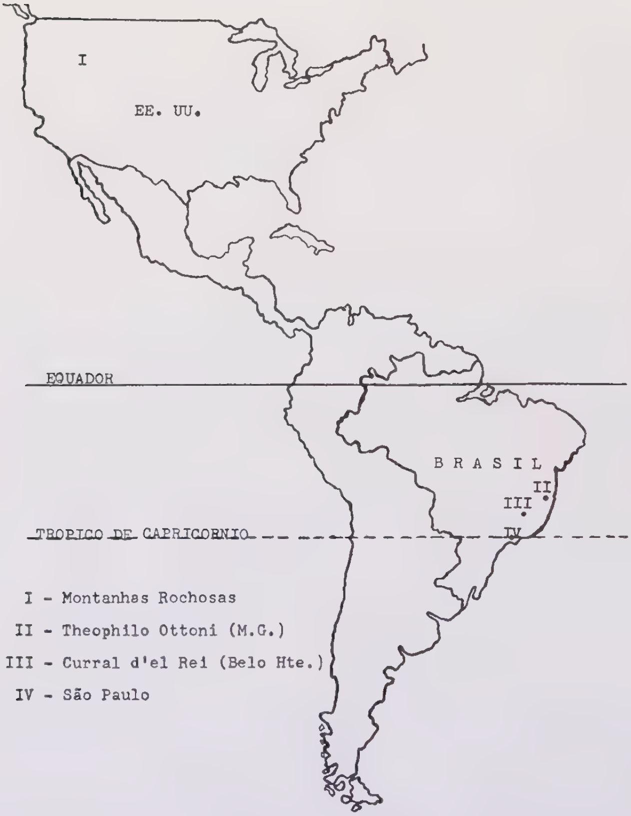
A Região Neotropical hoje, de fato, compreende uma grande parte do México. ENGLER, estudando a distribuição das plantas no período terciário, diz textualmente: "The Neotropical or South American element, with occording to ENGLER, must have had in Tertiary times much the same character as the at now possessed bâ tropical Brazil and the *West India*" (Enciclopédia Americana, página 728). Êle achava que o Globo se dividiria em 4 regiões naquela época e que, mesmo modernamente, o Reino Vegetal está subordinado a êste grande esquema: "Arcto-terciário", "Paleotropical", "Neotropical" e "Velho Oceânico". Como se vê, não se trata do Arquipélago da West Indian Islands, mas, realmente, da India Ocidental.

Seja como fôr, o aparecimento da doença do grupo Tifo exantemático das Montanhas Rochosas na Índia demonstra que não é razoável que se chame a doença de Febre Exantemática Americana, ou de Tifo Exantemático Americano. Ademais, sendo a região Neotropical, como é compreendida, muito mais vasta que a Neártica, àquela deve pertencer a denominação do grupo de doenças nela reinantes, parecendo que a Neártica foi invadida posteriormente à Neotropical.

Assim, pois, a minha designação de 'Tipo exantemático neotrópico" (no Brasil) é mais acertada do que adaqueles que chamam "Febre maculosa" (qual delas?), Febre maculosa americana, Febre americana do carrapato, designações imprecisas, ou ainda Febre maculosa das Montanhas Rochosas, que também nada diz de certo, pois nem é só maculosa e nem das Montanhas Rochosas, senão que exantemática e de tôda a vasta região neotropical, certamente com variedades regionais.



REGIÃO NEO-TROPICAL



ONDE FORAM ENCONTRADAS E ESTUDADAS EM PRIMEIRO LUGAR

GRÁFICO 1 — Atlas Jackon, Novo Atlas do Mundo (Loose Leaf): 42

Ficaria, assim, mantida a antiga e certíssima designação de Tifo exantemático, como para o Tifo murino, o Tifo histórico, apenas com a determinante neotropical, isto é, referente à mais vasta região zoogeográfica em que ela reina e que logo a separaria das demais do grupo. Como no fundo os AA. achassem erradas as anteriores denominações, resolveram apelar para o nome das Ricketsias. Mas também não há necessidade de recorrer à denominação "Rickettsiose", como já demonstramos em trabalhos anteriores, como ninguém chama a raiva de "Negriose" ou a sífilis de "Treponemose" ou ainda as disenterias bacilares de "Shigeloses", de "Bacilose de Koch" a tuberculose ou o mormo de "Malleomicose", ou ainda de "Chlostridiose" ao edema maligno ou a peste da manqueira...

Doenças há em nossa terra que foram certamente trazidas de outras regiões, pelos colonizadores ou estrangeiros. Por exemplo, a sífilis, a tuberculose, o gonocócia e a gripe dandêmica. Outras não. Assim, o grupo do Tifo exantemático, em algumas das suas formas, a febre amarela e, certamente, muitas espécies de virus, alguns ainda desconhecidos que, certamente, serão elucidados quando estudados os portadores dessas viroses em nossas matas.

O que parece certo no Tifo exantemático neotrópico, dada a evolução da doença nos EE.UU., de 1873 a 1954, é que êle se expandiu lentamente, ocupando estado por estado da nação norte-americana. Tem, pode-se dizer, os característicos de uma invasão recentemente estabelecida.

A antiguidade da doença em nosso país, certamente, conhecida há mais de um século no coração da América do Sul, região de Teófilo Otôni, no Estado de Minas Gerais, por exemplo, localidade esta completamente insulada do mundo exterior até há não muito tempo, Curral del Rei e seus arredores, inclusive o Cercado, arraial êste perdido no Centro de Minas, fundado na época das Bandeiras, fêz-nos pensar em duas hipóteses: primeira: foi da região Neotrópica para a América do Norte (onde adquiriu característica própria) que a doença partiu e que, ocupando a maior parte da região Neotropical, assim se devrá chamar, apesar de haver sido estudada em primeiro lugar na variedade das Montanhas Rochosas. E' preciso não esquecer a antiguidade do homem brasileiro e que o "Tabardilho" talvez já existisse no Brasil, antes de 1500, conforme assegura SERAFIM LEITE, referindo-se a certa carta de ANCHIETA. As últimas verificações sôbre a pré-história da Lagoa Santa, Minas Gerais, dão ao Homem de Confins, a idade de muitos milhares de anos.

A segunda alternativa é que, apesar do tronco comum hereditário, as duas doenças se desenvolveram insuladamente em cada país, com variações próprias regionais. Na primeira hipótese, a invasão se deve ter dado da região Neotropical para a Neártica, em época bastante recuada. O parasitismo deve ser velho como a vida sôbre a Terra. E' mais fácil parasitar do que lutar para viver. As plantas parsitaram as plantas e estas os animais. O homem foi a última vítima, porque foi dos últimos a aparecer na terra.

A origem real dos agentes etiológicos das doenças do grupo Tifo exantemático deve ter tido um tronco único primitivo. E' claro que, com tôda origem da vida na terra, perde-se na penumbra de tôdas as incertezas.

Em primeiro lugar, certamente, êles viviam em vida livre. Parasitaram, depois, as plantas, tornando-se fitoparasitas. Depois, o vonvívio com os animais silvestres na macega, nos pântanos e nas florestas, fêz com que êstes se tornassem, a princípio acidentalmente e depois permanentemente, os novos hospedeiros. A passagem para o homem pela vida primitiva dos nossos ancestrais foi, e ainda é para muitos dêles, um simples acidente no ciclo evolutivo dos parasitos.

Os trombidídios, casualmente se infestaram, nutrindo-se na seiva das plantas parasitadas. Picando sucessivamente os roedores e outros animais silvestres, no fim de certo tempo infestaram êstes animais, naturalmente após um período de adaptação indispensável. Lembremonos do tatu, como depositário primitivo do *Trypanosama cruzi,* parasito êste que só muito mais tarde, através dos triatomídeos, infestou o homem, invadindo-lhe as cafuas. E' por isto que, ao nosso ver, são o Tsutsugamushi e o Tifo murino os primitivos elementos do grupo na série evolutiva.

Os ixodidas que se infestaram nos animais da selva já constituíram um passo à frente na transmissão para animais mais diferenciados e domésticos ou que coabitam com os homens. Daí o Tifo exantemático neotrópico e várias outras espécies semelhantes.

A diferenciação maior foi, sem dúvida, a transmissão pelo piolho do corpo, do chamado Tifo histórico, em ciclo fechado: homem-piolho-homem, certamente depois que o homem começou a se cobrir de vestimentos. Ainda hoje, vemos transmissores acidentais mais importantes, ainda não bem adaptados como vectores do Tifo exantemático neotrópico, os cimicídeos, que modificam o virus às vêzes, atenuando-o e transmitindo raças como a V.A.$_1$ e a V.A.$_2$ e mesmo, não raro, a V.B. na formação dos focos domiciliares.

E' bem possível que, mais tarde, êles se possam tornar, como os carrapatos no exterior ou como os piolhos no corpo, nas casas, para o tifo histórico, em transmissores exclusivos da doença na região Neotropical.

E' sabido que os carrapatos podem transmitir, por herança, o virus do Tifo exantemático neotrópico. Isto se faz, porém, em pequena percentagem e daí a necessidade dos depositários de virus na natureza, para conservação da espécie (vide adiante, nas estampas 1 e 2, as fotografias dos principais depositários).

Certamente na primeira hipótese, foram as migrações dos animais que levaram da região Neotropical a doença para os EE.UU. da América do Norte, lá se adaptando e até mesmo hoje, se não nos enganamos, estendendo-se para o Canadá. Mas a doença é menos dos EE.UU., região Neártica, que da região Neotropical, onde certamente, é mais antiga, pois a invasão da América do norte tem a característica das doenças recentes.

Há um acôrdo hoje para alguns técnicos, em pensar que o World Continente era uma imensa massa de terra que, de tempos em tempos, em vários períodos da formação terrestre, se separava ou se unia; daí a dificuldade, não raro insuperável, dos pesquisadores modernos em explicar a presença de certos grupos de animais de formação terrestre, tão distantes um do outro, mesmo em continentes separados pelos oceanos.

E' verdade que as migrações foram, em muitas épocas, trocadas. Haja vista a família "Equus". A américa do Norte, segundo SIMPSON, foi o "homeland" dos cavalos que, da ponte do Panamá, passaram para a América do Sul. Durante o cetáceo superior, até ao fim do oligocênio, o Istmo do Panamá esteve emerso, interrompido no miocênio, restabelecido no miocênio médio durante algum tempo, deixou insulada a América do Sul até o fim do pleocênio. A imigração da fauna se deve ter apurado quando, no pleocênio, se deu a emersão definitiva do Istmo do Panamá.

G. G. SIMPSON diz textualmente: "Pouco antes da união dos dois continentes, a América do Sul tinha cêrca de 29 famílias de mamíferos terrestres e a América do Norte, 27. Com duas exceções duvidosas, não havia nenhuma família em comum. Pouco tepo depois da união do pleocênio, possuíam 22 famílias em comum".

E' preciso lembrar ainda que, na época pré-siluriana, o mar Mediterrâneo dominava a chamada bacia Amazônica. Êste era fechado a leste e limitado ao sul e ao norte pelos grandes maciços arqueanos do Brasil Central e das Guianas.

Na era carbonífera, a região da bacia recuou, pela afastamento do oceano e os rios formados, desaguaram no Oceano Pacífico. Com o levantamento da Cordilheira dos Andes, no cretáceo, formou-se um lago de água doce e, afinal, no terciário, cobriu tôda a bacia Amazônica. Não se sabe bem por que, no fim dêsse período, a margem oposta do lago cedeu e as águas começaram a correr para o oceano Atlântico. Foi nessa região que se formou a floresta Amazônica, com a fauna e a flora das mais características, insulando durante tantos séculos as populações de quase tôdas as regiões Sul-americanas, explicando o insulamento genético da fauna da região.

A existência já vislumbrada na Índia, parte da qual, para ENGLER, está na região Neotropical, mostra, portanto, claramente, que a designação não pode mais ser de "Febre exantemática das Montanhas Rochosas", nem "Febre exantemática americana" sòmente, senão que terá que ser muito mais ampla pra êsse grupo de doenças ou para a doença pelos unicistas, isto é, de Tifo exantemático neotrópico, no país onde fôr encontrado: no Brasil, na Colômbia, nos EE.UU., na Índia, etc. Esta designação, sim, separaria imediatamente de todos os grupos de moléstias semelhantes: Tifo exantemático histórico, a Doença de Brill, o Tifo exantemático murino, a Febre "Q" americana, etc., e conservaria designação histórica e certíssima de Tifo exantemático. Mesmo não aceitando as idéias de ENGLER, pelo conceito da paleontologia moderna, a simples existência da doença na Índia justifica a precariedade das denominações acima referidas.

E' necessário não esquecer ainda a existência de outra doença asiática, o Tokelau e a brasileira nos sertões de Mato Grosso, o Chimbere, tão bem estudados pelos professôres R. BLANCHARD, ROQUETE PINTO e O. DA FONSECA.

Alguns autores tentam ainda separar o grupo que êles chamam de Tifo exantemático, das Febres exantemáticas. No primeiro grupo, nas culturas mistas, as Rickettsias não invadiram os núcleos das células dos tecidos. Nas segundas, elas parasitariam os núcleos celulares.

Naturalmente, nós não discutiremos êste pormenor, bastando lembrar a discussão que houve em tôrno do valor patogênico das "Neisserias", que eram encontrdaas dentro e fora as células. Achamos, porém, nós, diferenças entre a doença das Montanhas Rochosas, norte-americana (R.M.S.F.) e aquela que apuramos no Brasil,, sob a designação de Tifo exantemático neotrópico. Seria uma variedade daquela doença.

Daremos, uma por uma, as razões por que assim pensamos. Antes, porém, vamos sintetizar, pelos nossos trabalhos,

O QUE FIZEMOS EM MINAS GERAIS

Separaremos, um por um, os pontos fundamentais dos nossos trabalhos, a maior parte dos quais foi resumida na Monografia n.º 6 do Instituto Oswaldo Cruz.

Em maio de 1933, insulamos a raça V.B. do virus brasileiro, caracterizando definitivamente a doença em Minas Gerais, afastando a possibilidade de outras ou de grupos semelhantes.

Em segundo lugar, de 1933 a 1937, estudamos as formas clínicas, inaparentes, benignas, graves, com a subdivisão comum, meningo-encefalica (meningo-encefalo-mielite aguda hemorrágica), anúrica e fulminantes, completando os pormenores da descrição clínica, em 1940 e 1941, em que mostramos a necessidade de se reformar a noção sôbre a epidemiologia da doença. Êstes fatos vinham modificar, também, inteiramente, o que se afirmava sôbre os aspectos clínicos da doença.

Em 1939, MEGAW encontrou formas semelhantes na Rocky Mountain Spotted Fever.

Em terceiro lugar, em 1933, apuramos que o *Cimex lectularius* era portador do virus brasileiro V.B. e provamos depois disto, em várias observações, que êle era capaz de transmitir a doença. A importância, porém, do percevejo, era principalmente pela possibilidade de inocular as raças atenuadas e, portanto, de provocar, por uma moléstia benigna, uma imunidade natural à raça V.B.. Esta possibilidade foi confirmada na Febre exantemática das Montanhas Rochosas, em 1953.

Em quarto lugar, em 1934, surpreendemos na natureza, naturalmente portador da raça V.B. do virus brasileiro, o *Amblyomma cajennense*.

Em quinto lugar, de 1935 a 1937, completando o trabalho em 1940, mostramos o papel do cão (*Canis familiaris*) como depositário do virus e a importância dêsse fato na formação dos focos domiciliares. Queremos assinalar bem, para evitar confusões, que não foi apenas uma prova de laboratório, para achar mais um animal sensível, senão que a importância epidemiológica do cão, como fator de difusão da doença. Isto era tanto mais importante quanto provamos, na mesma ocasião, que o animal podia infectar-se pela via digestiva. George Blanc e al., desde 1938, haviam provado que a via de transmissão ao homem, do Tifo murino, as mais das vêzes ara pelas vias das mucosas: bucal, ocular ou nasal.

Foi por esta ocasião também (1936-1939), como já havíamos mostrado em 33 e 34 para o gambá (*Didelphis marsupialis*), que o homem (Homo sapiens) poderia ser portador pela forma inaparente, do virus V.B. da raça brasileira.

Em sexto lugar, mostramos em abril de 1937 que o *Dermacentor andersoni* era capaz, também, de transmitir a doença.

Em sétimo provamos em 1947, que a cabra (*Capra hircus*) pode albergar o virus, sendo importante vetor para dentro dos domicílios na roça, pois em muitos lugares coabita com o homem, mostramos mais tarde, podendo transmitir a doença pelo leite (1948), tal qual hoje se admite para a transmissão do virus da febre "Q" (Marmion, R. P. — ob. cit.).

Em oitavo lugar, apuramos a presença de epidemias maciças familiares, já registradas desde 1933, tôdas de formas graves mortais, chegando, não raro, a 12 casos na mesma residência, num espaço de tempo relativamente pequeno. Não vimos fato semelhante referido na doença da Norte-América.

Em nono, mastramos, em março de 1942 e maio de 1943 que existiam, pelo menos, 3 raças de virus brasileiro, que denominamos V.B., raça virulenta clássica, fixa; V.A.$_1$ e V.A.$_2$ de menor poder letal, mas podendo transformar-se, pelas passagens, nas propriedades da raça V.B.. Eb 1954, Winston H. Price (ob. cit.) admitia a existência de 4 raças ou amostras do agente etiológico da doença norte-americana: "Our results indicate that at least four different representative strains of R. rickettsii can be distinguished in the United States" (Strains. R.S.F. and U.). Diz que R. R. Parker já pensara nisto e lastima que os pesquisadores não tivessem atentado logo ao fato.

Provamos nesta ocasião que a raça fraca podia imunizar contra a raça virulenta e, com êste critério, podemos afirmar hoje que, no período já adaptado, a raça de virus V.A.$_1$ ora imuniza ora não o animal sensível contra a raça V.B. (ob. cit., pág. 77). "Isto traz certa esperança de que talvez, partindo de uma raça como a V.A.$_1$, se consiga obter uma vacina semelhante à já conseguida com a amostra "E" do Tifo exantemático histórico".

E' interessante citar êstes dados, porque agora, em setembro de 1954, disseram Winston H. Price & al. (ob. cit.): "It has been shown that under certain conditions a low virulent T-type strain of "R. rickttsii" will protect uinea pigs against a highly virulent R-type strain of "R. rickettsii".

Veremos adiante que a mesma raça americana exaltada pela passagem através dos carraptos (Andersoni) nem sempre confere imunidde contra a raça V.B. brasileira. A imunidade de um indivíduo depende mais de fatôres pessoais que do tipo da raça observada. Quais seriam êstes fatôres? Serão os hormônios dos artrópodos que fazem variar a virulência e, pois, também a imunidade? Serão fatôres próprios do ciclo do virus? E' assunto a esclarecer.

Em décimo lugar, de janeiro a abril de 1948, provamos que o *Amblyomma cajennense* necessitava de, pelo menos, 36 horas de fixação num hóspede, para transmitir a doença, fato êste de grande importância na profilaxia racional da infecção e, principalmente, na explicação de fatos de epidemiologia, ligados à passagem de pessoas não imunes, pelas zonas onde a moléstia reina.

Mostramos também, desde 1938, que os carrapatos infestados necessitavam de uma sucção de sangue inócua para êstes animais, para que se pudessem tornar definitivamente infectantes, em novas picadas.

Em décimo primeiro assinalamos que, em 1939, descrevemos, em resumo, a parte anátomo-patológica da doença, frisando ali, pela importância, a que chamamos "necrose salpicada" do fígado que, mais tarde, dissertamos pormenorizadamente.

Em décimo segundo: de 1939 a 1940, fizemos em companhia do Dr. Renato Pena, estudos electrocardiográficos da doença e numerosos exames de laboratório.

Décimo terceiro lugar — De 1940 a 1943, demos as bases anátomopatológicas da forma meningo- encéfalo-mielite hemorrágica do doença.

Em décimo quarto lugar — Neste mesmo ano, assinalamos a doença no estado de Goiás. Devemos aqui anotar que no laboratório demonstramos ser possível, colhido o sangue, em certas condições, obter ainda a infecção experimental típica, 3 ou 4 dias após a colheita, inoculando em animais sensíveis, fato êste que permite uma verificação mais rigorosa dos casos assinalados em locais distantes dos laboratórios de pesquisas.

Finalmente em décimo quinto lugar, quando tratamos da designação pela qual deveria ser anotado o grupo dessas doenças e que muitos quiseram substituir pelo de Rickettsioses, dissemos naquela Monografia (página 7) que uma coisa desde logo perguntaríamos: que seriam rickettsias? Em segundo lugar, se já havia sido fechado o ciclo de Pasteur, com êstes micróbios.

Na página 731 daquela Monografia, dissemos: "Não podendo mais firmar determinados pontos indispensáveis à boa doutrina experimental, os sábios modernos, dos mais acatados, acharam que o Proteus X, na sua variada família, as Rickettsias, também de espécies multiformes e o virus, são fases de um mesmo micróbio".

No livro de Ebelin L. Oginsky e Wayne W. Umbreit (página 333) (ob. cit.), lemos: "Rickettsia. These organisms, while intracellular parasites, differ from the viruses in that they can be observed in the light microscope, although some people think that it is only the lesion produced by the organisms that is visible. The visible "organisms" in a rickettsia-infected cell appear to be very much like the mitochondria; hence the supposition in some quarters that the visible unit is a "damaged" mitochondrium and that the infectious agent is actually invisible". Êstes autores fazem parte do Merk Institute for Therapeutic Research.

Não somos assim radicais. Pensamos, todavia, que há, no ciclo evolutivo do agente das doenças do grupo Tifo exantemático ou nas Rickettsias uma fase invisível aos microscópios comuns. É, aliás, o que vemos em bactérias de organização muito mais complexa. Os nossos conhecimentos sôbre o ciclo bacteriano do tipo L e das formas L das bacterias mostram nìtidamente que elas podem ter "formes maines, dont quelques un ont les dimensions d'un virus de taille moyenne" (ROBERT TOULASHE). O conceito de que as formas L das bactérias são avirulentas também já não persiste após as pesquisas de LAVILLAUREIX (1954), que mostrou a existência de amostras da forma L fixas, altamente virulentas para os animais de laboratório.

Não seria, pois, de admirar que as Rickettsias também tivessem destas formas em todo o grupo das doenças do Tifo exantemático. Aliás, o agente da febre "Q" é filtrável. Foi por isto que, no decorrer dos nossos trabalhos, falávamos sempre de modo geral, de virus. E' isto, aliás, que explica certas experiências do Tifo exantemático neotrópico, em as quais se reproduz a doença, inoculando material virulento após a filtração, em velas L de Berkfeld e a dificuldade de se encontrar em tecidos de alta e conhecida virulência, as verdadeiras Rickettsias. E' esta a dificuldade a que se referem SMITH & MARTIN (ob. cit.), quando afirmam, referindo-se à *Rickettsia burnetti*: "No rickettsia, however, could be demonstrated in the animal or the human material". (Lillie, Permi and Armstrong, 1941).

A cultura em tecido e embrião de galinha pode ser portadora, também, do virus, tão bem como as Rickettsias, e não é fácil separá-los no estado atual dos nossos conhecimentos. E perguntamos: Não seriam as formas invisíveis nas culturas e embriões de galinha no Tifo exantemático neotrópico, que existem nas primeiras passagens, onde dificilmente ou não se encontram rickettsias e só nas passagens posteriores é que podemos verificar a sua presença, sendo, todavia, as primeiras, altamente virulentas para os animais sensíveis?

Como vemos, não eram injustas as nossas verificações sôbre numerosos problemas, ainda abertos, nessa tão importante questão do grupo das doenças do Tifo exantemático.

Devemos assinalar que muitas das nossas observações foram depois apuradas pelos técnicos americanos na doença naquele país. Reivindicamos, portanto, para a nossa terra, êstes dados originais que, como sempre, não são citados.

Em fevereiro de 1950, iniciamos a terapêutica pelos modernos antibióticos, empregando a Penicilina, a *Aureomycinetina,* a *Chloromycetina,* a *Terramycina,* e, agora em 1954, a Tetracina, tendo também, em 1950, usado o PABA como terapêutica para as formas graves.

A *Terramycina*, com a qual iniciamos a terapêutica em abril de 1950, a nosso ver, resolve definitivamente o problema da terapêutica das formas graves de Tifo exantemático neotrópico no Brasil.

CLÍNICA

O síndromo clínico das doenças do grupo Tifo exantemático não é suficiente para decidir a diferenciação. Todo grupo tem uma tríade que, em certas formas, se confunde de modo absoluto. Há uma constante mórbida para todos êles. E' impressionante a semelhança da doença brasileira, por exemplo, com a do Tifo histórico ou do piolho nas linhas mestras dos achados clínicos. E' só ler com atenção os magistrais capítulos da doença reinante em países da Europa, com a que apuramos no Brasil. São diferenças insignificantes. Foi mesmo esta semelhança de aspectos clínicos que trouxe a confusão entre a doença de Weil e a febre amarela. Isto nos leva cada vez mais a crer no tifo exantemático num tronco único, filogenético, para tôdas as doenças dêste grupo. Doenças, talvez, primitivamente das plantas, destas passaram para os roedores ou outros animais silvestres. O tifo murino e o Tsutsugamushi seriam os representantes primitivos da doença. Êles independem do homem para viver. Só por acaso é que o parasitam. Dessas infecções primárias, acidentalmente através dos vectores, passariam para os homens de vida primitiva, em contacto direto e freqüente com a Natureza, nos campos, macegas ou matas. O tifo do piolho é o representante mais afastado do tipo primitivo, pela adaptação completa ao homem e com o ciclo piolho-homem, homem-piolho.

Pelos séculos afora, e as passagens pelos vectores diferentes nos Continentes, firmaram-se as raças e talvez sub-raças com que a doença se apresenta no Universo. O aspecto geral ficou o mesmo, mas a transmissão e os pequenos pormenores clínicos variaram. Mas êstes, por si só, principalmente nas formas levíssimas, não têm elementos para separar as variedades mórbidas do grupo, tão próximo são êles, no quadro com que se apresentam nos diversos continentes.

LABORATÓRIO

Aqui sim, podemos encontrar nos vários setores diferenças marcadas. Em primeiro lugar, estudaremos os dados que o laboratório colheu pela apuração e confirmação dos casos, a fim de traçar o quadro epidemiológico da doença, compará-lo com a chamada Febre exantemática das Montanhas Rochosas (R.M.S.F.).

EPIDEMIOLOGIA

À primeira vista, pela análise dos gráficos, o primeiro colhido po THOMAS G. HULL (ob. cit.) e aquêle que conseguimos em Minas, parece não haver diferença na doença americana da brasileira. Analisemo-los.

Os norte-americanos mostram que a doença se inicia na primavera; a brasileira começa no princípio do outono. O máximo da curva da doença brasileira se verifica no inverno, caindo abruptamente ao se iniciarem a primavera e o verão. Isto se prende, certamente à atividade vital dos vectores. No Brasil, em Minas Gerais que mais de perto conhecemos, há nos campos e macegas, durante todo o ano, carrapatos sob tôdas as formas de evolução, variando apenas a quantidade e a qualidade. Em nosso caso, já o dissemos, o fator principal como vetor — *Amblyomma cajennense* em primeiro lugar — necessita de uma sucção de sangue prévia, para se tornar infectante. As larvas do carrapato, que trazem hereditàriamente o virus (não devem ser muitos: talvez 10 a 30%) precisam sugar, antes de se tornarem infetantes, já agora no período de ninfa, sendo aqui as maiores responsáveis pela transmissão da doença, nas formas graves, em setembro, quando dominam. Isto não afasta a possibilidade da infestação pelas próprias larvas, em certs condições, pelos adultos e percevejos. Além disso, haverá certos fatôres do próprio virus ou das estações do ano e da maior ou menor disposição das pessoas imunes à picada dos vectores infetados, que influem na questão.

REPRESENTADO O NÚMERO DE CASOS DA DOENÇA AMERICANA (LÉSTE E OESTE) E DO BRSIL (MINAS GERAIS, FORMAS GRAVES), DURANTE OS MESES DO ANO

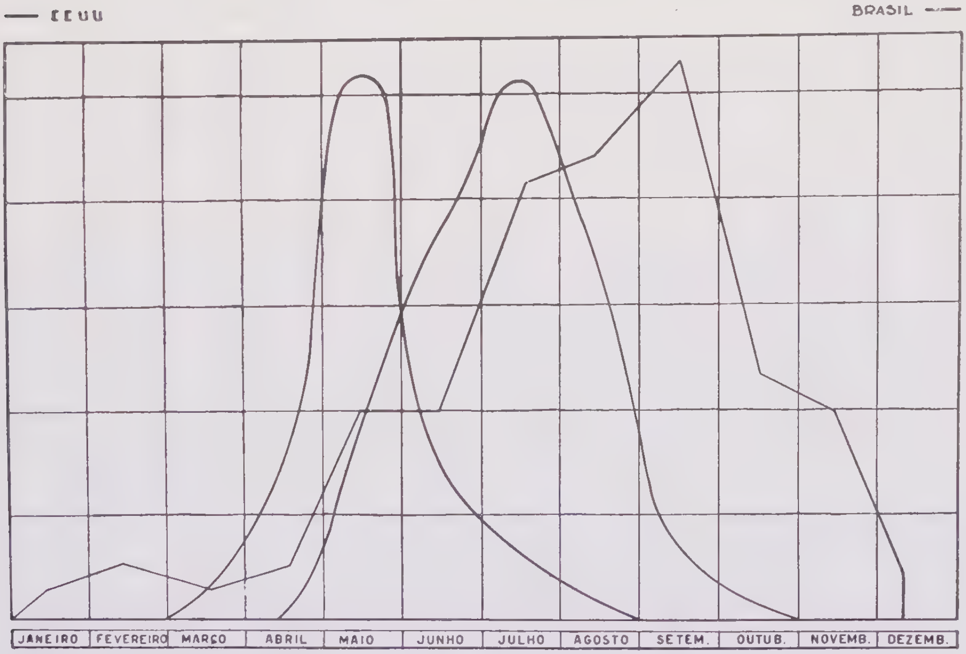


GRÁFICO 3

E' necessário, porém, assinalar que êstes gráficos não dizem tudo. Êles se referem, de regra, sòmente às formas graves da doença, passando desapercebidas e não registradas as formas inaparentes, benignas e fulminantes. E' bem possível que, se tôdas estas formas clínicas entrassem no cômputo total, os resultados seriam ainda mais acentuadamente diferentes.

Na edição de 1948, de Thomas Rivers (Viral and Rickettsial Infection of Man), HERALD B. COX disse (pág. 496): "Man is an incidental victim to spotted fever and is in no way responsible for the maintenance of the infection in nature, which is due largerly to tickes and the wild rodents on which they feed".

Em parte se aplica à doença brasileira. Mas, entre nós, como provei, o homem pode ser *portador* das raças brasileiras de V.A.$_1$, V.A.$_2$ e mesmo V.B. (doença inaparente), durante muito tempo, sendo hospedeiro e foco propagador do virus.

Na epidemiologia da doença no Brasil, podemos dizer que o virus jamais atravessa a pele ou mucosa sã, mesmo quando a primeira é raspada com navalha, deixando uma superfície ligeiramente sangrenta. No mesmo livro, o mesmo autor diz, referindo-se a êste fato: "Spencer and Parker (1930) showed that tick rickettsiae would produce infection of Guinea pigs through the unabraded skin and uninjured conjunctival sacs, and suggested that infection in man in this way is a distinct possibility and doubtless occurs occasionally. Infection in such a manner could occur if an infected tick is crushed between the fingers when handpicking ticks from horses, cattle, dogs or others animals, or when handling tick-infested small animals (rabbits, ground squirrels, etc.) that had been trapped or shot. Fresh tick feces are also infectious, but the rickettsiae in feces are much less virulent than in tick tissue and apparently will not infect through unabraded skin. However both tick tissue and tick feces can produce infection through an abrasion".

Eis as nossas palavras: "O virus não atravessa a pele sã e também não o conseguimos fazer atravessar a pele prèviamente raspada com navalha, esfregando, durante algum tempo, material virulento sôbre o local. Não atravessa, tampouco, a conjuntiva ocular intacta. O contágio direto, se existe, é raríssimo. De mais de duas centenas (270) de necrópsias que fizemos, de indivíduos mortos com o Tifo exantemático neotrópico, seguramente 60 foram feitas sem máscara, sem óculos, apenas nos protegendo com duplos aventais e luvas, devendo assinalar que numerosas vêzes necropsiamos poucas horas após a morte e até mesmo minutos após, quando o sangue e os tecidos ainda eram certamente infetantes. Não raro, fazíamos duas necrópsias num mesmo dia, em sala deficiente de ar, espaço e material. Alguns dos nossos auxiliares tiveram, por inadvertência, a face suja de material dos cadáveres humanos e com o sangue de animais em pleno período febril da moléstia. Um ou dois dêsses auxiliares teve o dedo cortado pela tesoura que servia na necrópsia. Cêrca de 200 doentes passaram pelo Hospital Cícero Ferreira. Foram tratados carinhosamente, em manipulações diárias, com sangrias, lavagens intestinais, etc., tomando-se apenas os cuidados comuns das moléstias infeto-contagiosas em geral e, todavia, nem um único médico, enfermeiro, auxiliar ou servente, contraiu a moléstia.

ANATOMIA PATOLÓGICA

Wolbach tentou recentemente fazer estudos comparativos entre as lesões de vários tipos de doenças do grupo Tifo exantemático. Com sinceridade achamos que aqui ainda não é possível estabelecer fronteiras definitivas entre os diferentes elementos do grupo, tal como acontece com a clínica; apesar disso, assinalamos, por exemplo, que entre nós são freqüentes os ataques ao sistema nervoso e seus envoltórios, servindo mesmo de base para o estabelecimento de uma variedade clínica meningo-encéfalo-mielite hemorrágica, isto é, forma nervosa.

Diz o autor, referindo-se ao coração: "the order of degree is tsutsugamushi disease, typhus and Rocky Mountain spotted fever".

Entre nós, o ataque ao miocárdio é freqüente, pela clínica que desaparece com a convalescência.

Diz o autor ainda: "Another occurence in tsutsugamushi disease, not observed in typhus and Rocky Mountain Spotted Fever, is involvement of the serous mesothelium of pericardium and pleura, shown bâ swelling, proliferation and serous exudation unassociated with pericarditis of pneumonia of bacterial origin". Entre nós são comuns, e assim por diante.

Aliás, como vemos, são pormenores de patologia que, a meu ver, não bastarão para separar moléstias tão próximas no grupo Tifo exantemático e tão variáveis nas diferentes formas com que se apresentam.

INOCULAÇÃO NO CARNEIRO (OVIS ARIES)

Lemos Monteiro já havia mostrado a dificuldade de se infetar carneiro com o virus V.B. brasileiro. Nós também a encontramos e, se bem que tivéssemos obtido, trabalhando com animais jovens e adultos, ligeira ascensão térmica, não conseguimos insular o virus do carneiro, injetado com raça virulenta fixa brasileira (V.B.). Nem do sangue, nem do leite, mesmo injetando as 3 variedades, V.B., V.A.$_1$ e V.A.$_2$. Ora, nos EE.UU., fácil foi a Badger infetar carneiros novos com o virus da Febre Exantemática das Montanhas Rochosas, reinsulando o mesmo do sangue no 4.°, 6.°, 8.° e 10.° dia após a inoculação virulenta. E' esta uma diferença bem assinalada.

Nos EE.UU., portanto, o carneiro terá um grande papel como depositário do virus e, no Brasil, principalmente no sul, de importância relativamente nula.

VACINAÇÃO

Empregamos os seguintes símbolos:

V.P. = Vacina Parker, Norte-americana n.° 1372
V.C.B. = Vacina Tipo Cox, brasileira
V.S.P. = Vacina Tipo Parker, de São Paulo
V.B. = Virus clássico virulento fixo, brasileiro
V.R.S.M.F. = Virus da Rocky Mountain Spotted Fever

Quadro 1

OBSERVAÇÕES	Quantidade	Número de animais	Espécie	Reinoculados	Resultado
b) Vacinação heteróloga: V.P. x V.B. — 1933-1935					
Minhas observações em Minas Gerais V.P.	1cm3	20	Cobaios	V.B.	2 abandonados. 12 reagiram e morreram com lesões típicas. 6 reagiram acima de 1 grau, mas não morreram. Testemunhas ++.
Lemos Monteiro. São Paulo, 1933/4, V.P.	1cm3	5	»	Mais V.B.	3 reagiram tlpicamente. 2 não reagiram.
Minhas observações em Minas Gerais. 1931/5, V.P.	2cm (intervalos de 7/8 dias de 1cm3 cada)	10	»	Mais V.B.	Nenhuma morreu. 5 tiveram mais de 1 grau de febre, durante vários dias. Uma reagiu tlpicamente duarante 1 dia. Testemunhas ++
São Paulo, 1933/4, V.P.	3cm3 (1cm3 + 2cm3 5 dias de intervalo)	5	»	Mais V.B.	Não reagiram. Testemunhas ++.
Lemos Monteiro. V.S.P.	1cm3 2,5 cm3	2 2	» »	V.R.M.S.F. V.R.M.S.F.	1 abondonado 2 não reagiram. **Nota:** Dêsse grupo, 3 não reagiram. Testemunhas ++.
b) Vacinação homóloga					
Lemos Monteiro. 1933/34, V.S.P.	0,5cm3	2	»	Mais V.B. (18 dias ap.s)	Não reagiram
Lemos Monteiro. 1933/4, V.S.P.	1cm3	3	»	Mais V.B.	Não reagiram
Lemos Monteiro. 1933/34, V.S.P.	2cm3	1	»	Mais V.B.	Não reagiu. Testemunhas ++
Magalhães. 1933/6, V.S.P.	1cm3	2	»	Mais V.B.	Não reagiram
Magalhães. 1933/6, V.S.P	2cm3	4	»	Mais V.B.	Não reagiram. Textemunhas ++
Magalhães. 1945, V.C.B.	1cm3	2	»	Mais V.B.	Não reagiram.
Magalhães. 1945, V.C.B.	2cm3	2	»	Mais V.B.	I não reagiu. 1 foi abandonada.
Magalhães. 1945, V.C.B.	3cm3	2	»	Mais V.B.	Não reagiram. Testemunhas ++
Magalhães. 1954, V.C.B.	1cm3	10	»	Mais V.B.	Nenhuma morreu, se bem que reagissem termicamente 1 ou 2 dias. Testemunhas ++.
Magalhães. 1594.	2cm3	10	»	Mais V.B.	Não reagiram. Nenhuma morreu. Testemunhas ++.
Magalhães. V.R.M.S.F.			»	Mais V.B.	Vide gráfico.
Magalhães. V.B.			»	Mais V.B.	Vide gráfico.

CONCLUSÕES

Dos 30 cobaios inoculados por Octavio Magalhães, com a vacina R.R. Parker dos EE.UU., e depois reinoculadas com a raça V.B. brasileira, em épocas e com vacinas diversas, dois foram abandonados por doença intercorrente. Dos 28 restantes, 23 reagiram tèrmicamente, ou seja 82%, após a reinoculação posterior do virus brasileiro. Dos 18 inoculados com 1 cm^3, apenas, da vacina de R.R. Parker, EE.UU., 18 ou 100% reagiram tèrmicamente após a inoculação de V.B. e 12 morreram com lesões típicas da doença brasileira, ou sejam 66%. Dez cobaias inoculadas por Lemos Monteiro, com vacina R.R. Parker dos EE.UU., mais V.B. de São Paulo, 3 reagiram tèrmicamente, ou 30%, após a inoculação do V.B. e nenhuma morreu. Cinco inoculadas com 3 cm^3 não reagiram tèrmicamente após a inoculação com o V.B.; 4 cobaias vacinadas com vacina tipo R.R. Parker e virus V.B. (brasileiro) e mais tarde reinoculadas com virus da R.M.S.F., sendo 2 com 1 cm^3 e duas com 2 cm^3, nenhuma reagiu, sendo 1 abandonada por fator intercorrente. Trinta e duas cobaias foram inoculadas por O. Magalhães com vacina tipo Cox (V.B.C.) do virus brasileiro e depois com o V.B., destas não morrendo nenhuma (100%). Doze foram inoculadas sòmente com 1 cm^3 da vacina, sendo que apenas algumas reagiram tèrmicamente e não morreu nenhuma. Vinte foram inoculadas com 2 doses no intervalo de 7 dias e nenhuma reagiu ou morreu (100%). As testemunhas destas provas reagiram tèrmicamente e morreram com lesões típicas. Lemos Monteiro, injetando 1 cobaio com 0,5 cm^3 de vacina V.B. reinoculado com o mesmo virus e mais 5 animais, recebendo doses variando até 2 cm^3 de vacina homóloga, nenhum reagiu tèrmicamente ou morreu. Naturalmente é necessário empregar produtos biológicos, principalmente vacinas, de real e completo poder imunizante. Em nossas pesquisas de 1948, encontramos amostras de vacinas do tipo Parker, que não imunizavam de modo algum cobaias com 1 cm^3, 2 cm^3 ou mesmo 5 cm^3 em doses intercaladas. Em síntese, as vacinas preparadas com a raça exaltada do virus da Febre exantemática das Montanhas Rochosas não imuniza as cobaias na mesma dose mínima que a vacina preparada com o V.B. exaltada, brasileiro. Eis a diferença quantitativa que encontramos neste setor. Certamente se trata de uma raça diferente de virus.

IMUNIDADE CRUZADA

A desvantagem da imunidade cruzada está assinalada em meu trabalho publicado nos Arquivos de Neurologia e Psiquiatria de Minas Garais, em 1941. E' sabido que um virus pode persistir muito tempo no corpo do animal, sem qualquer modificação mórbida aparente, após uma inoculação virulenta. Daí o perigo, após as segundas inoculações, quando a temperatura da primeira cai, de se insular não o segundo virus, mas o primeiro da infestação. Foi por isto, aliás, que preferimos para a prova diferencial as vacinas mortas. Eis o que dissemos na Monografia n.º 6 na página 751:

"Há ainda uma prova, das mais importantes, da questão da imunidade cruzada, que é a prova com a mesma amostra da raça V.B. do Tifo exantemático neotrópico. Insistimos nesta prova porque ela, a nosso ver, é decisiva para a nossa argumentação. Tomemos o cobaio n.º 2, macho, robusto e inoculemos, via intraperitoneal, a raça V.B. do virus brasileiro. Naturalmente, após a inoculação já conhecida, a febre começa a elevar-se, a reação testicular é típica e um pequeno grupo de animais, dentro dos quais estava incluído o cobaio n.º 2, e êste se salva. A temperatura cai em lise e chega, no fim de 20 ou 30 dias, à normalidade anterior, o pêso eleva-se e tudo parece novamente entrar em ordem, no animal em experiência. Nesse dia, injeta-se novamente nesse mesmo animal a mesma amostra do virus V.B.. Que acontecerá? Os gráficos juntos do cobaio 2 são expressivos, o 2 e o 46, que mostram claramente o fenômeno que acabamos de descrever.

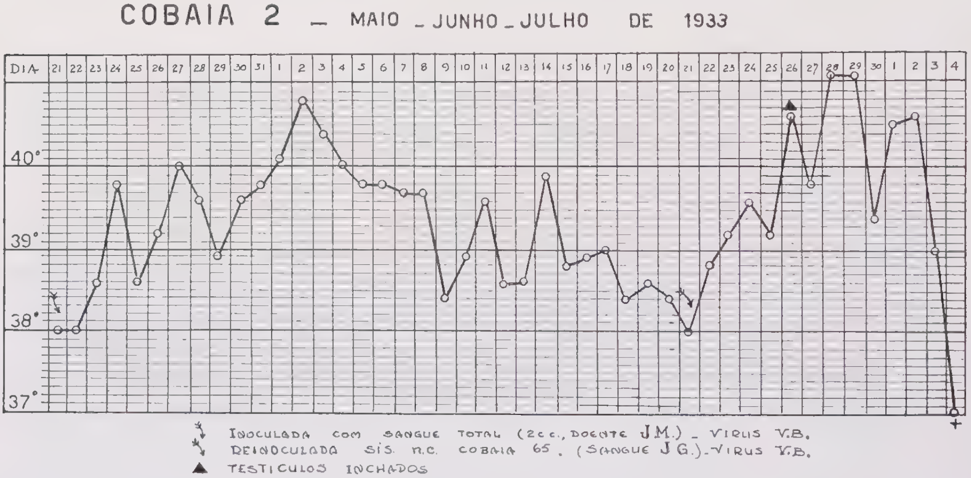


GRÁFICO 4

Tivemos, aliás, no decurso de nossos trabalhos, numerosos animais nessas condições. Se, ao invés de inocular novamente com a mesma amostra o cobaio, no dia seguinte à normalidade da curva térmica, reinoculamos após 10, 20 ou 40 dias, do abaixamento da temperatura, sem discrepância, 20% e mesmo 30% dos animais reagem novamente.

Os 70% ou 80% dos animais restantes não apresentam reação térmica, testicular ou esplenomegálica a esta segunda inoculação da mesma amostra da raça V.B. do virus brasileiro. As passagens sucessivas e posteriores em cobaios demonstram, nesse caso, que houve imunidade definitiva e duraroura. Dessa maneira, se seguirmos ao pé da letra o que afirmam os clássicos, em matéria de imunidade cruzada, no Tifo exantemático neotrópico, em 70% a 80% dos casos se tratava do mesmo virus, em 30% a 20% dos casos de virus diferentes, apesar das contraprovas terem sido feitas nas mesmas condições de experiência, com os mesmos animais e o que mais é com a mesma amostra de virus V.B.!"

Cobaio n.º 1 — Inoculado, pela primeira vez em 21-5-1953, via intraperitoneal, com 2 cm^3 de sangue do coração de J.M., morto (V.M.) no Hospital Cícero Ferreira. Teve uma reação demorada. Salvou-se. Em 21 de junho de 1953, já apirético, reinoculamos o mesmo cobaio com s.n.c. (V.M.) do cobaio n.º 65. O cobaio 65 era a terceira passagem de V.M., proveniente do sangue de M.O., que reagira febrilmente (Vide gráfico 1), mas não morreu. Dois meses e pouco após o abaixamento da temperatura da segunda reação febril pela inoculação de V.M., injetamo so V.M.R. (triturado de *Dermacentor andersoni*), remetido pelo Dr. R. R. Parker O gráfico do cobaio n.º 1 é expressivo. Sete dias após a inoculação, a temperatura começou a elevar-se. Houve pequena remissão, nova temperatura elevada e foi sacrificado, no fim de vinte e cinco dias. Apresentou notável reação escrotal. A necrópsia revelou um baço volumoso, vermelho hemorrágico, com periesplenite ligeira, pesando 1 300 g e medindo 3,5 cm x 1,5 cm. Fígado volumoso, pesando 20,8 g. Com o material dêsse cobaio (sangue e sistema nervoso central), continuamos a conservar o V.R., em nosso laboratório, pela inoculação em outros cobaios números 699, 700, 702 e 703. Os cobaios que reagiram tìpicamente a uma ou duas inoculações do V.B. não ficaram imunizados contra o virus exaltado da R.M.S.F.

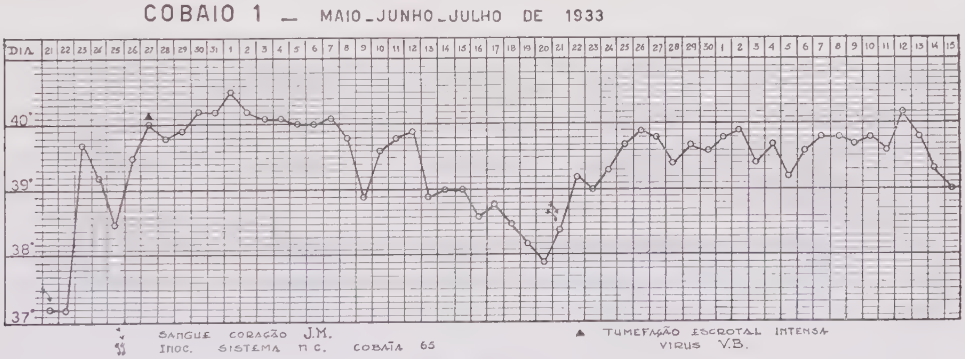
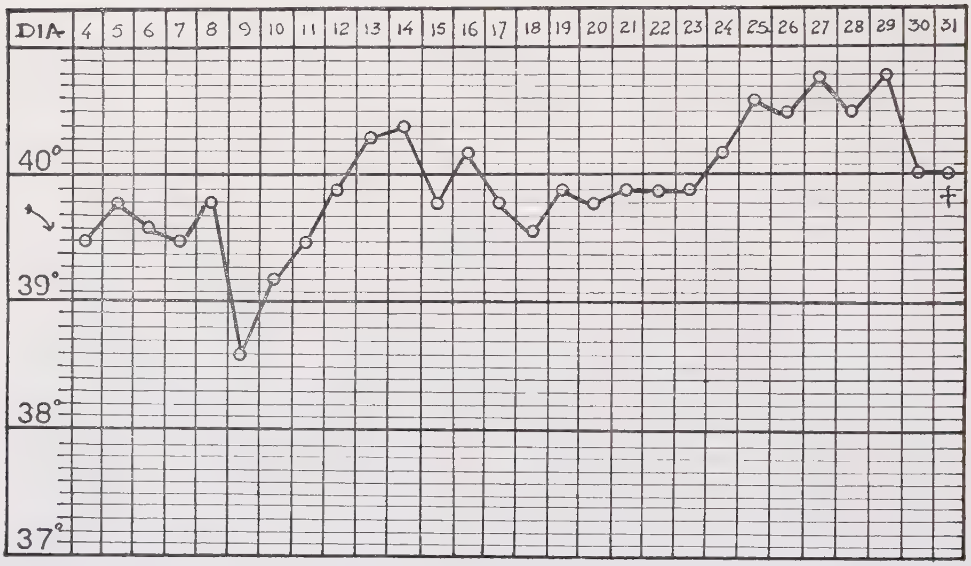


GRÁFICO 5

Cobaio n.º 109 — Inoculado em 26-6-1953, pela primeira vez, via intraperitoneal, com líquido peritoneal do cobaio n.º 57 (4.ª passagem V.M. sangue do coração do menino J.M. — Hospital Cícero Ferreira). Apresentou, após incubação de 5 dias, reação febril que chegou à segunda ascenção, até 41°C. A reação febril durou muitos dias. Em fins de julho, a temperatura começou a cair. Em 18 de outubro de 1933, dois e meses e poucos dias após a cura, reinoculamos com o V.R.M. Não reagiu febrilmente. Morreu em 7-11-1933, 21 dias após. A necrópsia revelou um baço com 0,800 g de pêso e 1,8 cm x 1,2 cm de tamanho. O sistema nervoso central docobaio, apesar da falta de reação febril, infetou, em nova passagem, outro cobaio (n.º 727) que reagiu expressivamente e morreu. Temperaturas: 38,9º — 38,9º — 40,0º — 41,3º — 39,8º — 39,9º — 40,7º — 40,2º — 40,6º — 40,5º — 40,8ºC + Lesões típicas.

COBAIO 1 — OUTUBRO DE 1933



INOC. COM TRITURADO CARRAPATOS "DERMACENTOR ANDERSONI" INFETADOS COM O VIRUS DA FEBRE EXANTEMÁTICA DAS MONTANHAS ROCHOSAS (E.E.U.U)

GRÁFICO 6

Assim, podemos afirmar que a imunidade cruzada não é a prova decisiva que já tantos autores têm querido invocar para identificação das duas doenças. Basta, neste grupo de doenças ou semelhantes, invocar a varíola e a vacina, o tifo murino e o tifo histórico, com idênticos fenômenos de imunidade e, no entanto, moléstias diferentes.

Já em 1930, Ricardo Jorge invocara o mesmo argumento, para chamar a atenção dos unicistas irredutíveis: "Le critère de l'immunité croisée prouve que les deux virus (typhus majeur et mineur) sont de la même famille: l'un protège contre l'autre. Déduire de là leur identité de nature absolue, c'est bien risqué; le cowpox protège contre lo smallpox et réciproquement, et pourtant les deux maladies ne se confondent pas. Or, les deux typhus s'écartent justement par la double réaction rat-cobaye; sensibilité du rat au virus majeur (sic) — électivité du virus mineur pour la vaginale du cobaye. Donc, des virus distincts". (Bull. Mensuel Internat. Hyg. Publique, XXV (2): 289-304, Oct. 1932 (1933).

REAÇÕES SOROLÓGICAS

1) *Weil Felix*

Já mostramos exaustivamente que esta reação em nada ficava devendo à Reação de Fixação do Complemento. Ambas, em dadas circunstâncias, são ótimas para o diagnóstico da doença atual, servindo a segunda para o diagnóstico da doença retrospectiva, sòmente quando o paciente se afasta do meio infetante, livrando-se das picadas dos hematófagos vectores do virus. Ambas, porém podem falhar, mesmo em casos graves, comprovados pelo insulamento do virus em animais sensíveis.

A segunda, R.F.C. é, realmente, uma reação de imunidade e é sempre relativa na doença humana ou experimental; a primeira não nos parece ser expressiva da defesa orgânica, senão que uma reação para-imunitária.

Seja como fôr, o Weil-Felix se mostra eloqüentemente na doença presente nas formas graves e mesmo benignas do Tifo exantemático neotrópico entre nós. Por ela, se expressa a profunda diferença entre a doença brasileira e a norte-americana.

Weil-Felix	*R.M.S.F.*	*Tifo exantemático neotrópico no Brasil*	
0X19	+	++++	Máxima — 1/20 480
			Média — 1/ 5 120
			Mínima — 1/ 1 280
0X2	+	+++	Máxima — 1/10 320
			Média — 1/ 5 120
			Mínima — 1/ 1 280
0XK	+	++	Máxima — 1/ 1 280
			Média — 1/ 640
			Mínima — 1/ 320

A doença brasileira é tìpicamente o antígeno misto da classificação de Flix. Não raro, experimentalmente, só vemos reações positivas com antígeno OXK. O mesmo fenômeno se dá, no homem, com antígeno 0X2 e é comumente, pela "reação de grupo" que êle se apresenta, tal qual vemos na reação de fixação do complemento pela técnica de Bengstan, quando há positividade para os antígenos do tifo murino, tifo histórico e febre exantemática das Montanhas Rochosas, caracterizando-se o verdadeiro agente etiológico apenas pela altitude da diluição nas reações.

2) *Reação de Fixação do Complemento*

Seguimos várias técnicas para a R.F.C., considerada por Bengston, modificada por Kolmer e Boemer, comprovada também pela técnica clássica, aconselhada pelo Instituto Oswaldo Cruz. Os antígenos foram obtidos nos EE.UU., pelo Laboratório Lederle e pelo Instituto da Rocky Mountain Spotted Fever em Montana e o preparado com a raça V.B. entre nós.

Como na reação de Weil Felix, há, nestas reações, fenômenos de co-fixação para vários grupos. O ideal, em Imunologia, é que as reações sejam rigorosamente específicas para determinado micróbio em altas diluições e nula (zero) para os demais; embora próximos. Mas não é isto que se verifica na grande família do Tifo exantemático. Basta compulsar os trabalhos dos autores que se ativeram a êste assunto e o nosso, publicado com Adyr Rocha nas Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, T. 48:151-197, 1950. O que serve para separar, nestas reações de grupo, o verdadeiro agente do caso em questão, é o título da diluição mais alta em a qual foi verificado.

A Reação de Fixação do Complemento como a da aglutinação dá co-reações para outros virus do grupo em às vêzes bem altas diluições. Mesmo com os antígenos modernos bem purificados, esta co-fixação existe e foi por isso que resolvemos tentar uma reação de fixação quantitativa (esta designação, modernamente, tem outro significado) para o sôro e o antígeno, de modo a ver se era possível, desta maneira, estabelecer melhor diferenciação.

A princípio demonstrava-se irrefutàvelmente a igualdade das amostras, só pela reação de imunidade cruzada. E, desta maneira, faziam-se classificações nas doenças do grupo Tifo exantemático. Está hoje provado que estas reações não têm valor decisivo. Recorre-se agora às provas antigênicas que também não podem ser patognomônicas. Basta lembrar que a reação de Wassermann é positiva fortemente na sífilis e na bouba e que a vacina e a varíola são moléstias diferentes. Seria talvez mais sincero, se não chegarmos a um acôrdo definitivo, dizer "ignoramos" no estado atual dos nossos conhecimentos e vamos tentar por outros meios a diferenciação ou a igualdade dos resultados. Também as reações quantitativas, variando as diluições de sôro e dos antígenos, falam a favor da nossa hipótese. Eis os resultados. E' claro, como já assinalamos que, mesmo em casos positivos, experimentais ou não, esta reação, como o Weil-Felix, pode falhar.

Quando se empregam os antigenos na diluição apropriada, mas em quantidades fixas e apenas se dilui o sôro, os resultados são, de regra, iguais para o antígeno brasileiro e o antígeno americano. A desigualdade se acentua, todavia, quando se diluem, em quantidades decrescentes, sôro e antígeno. Então, vemos que a R.F.C. é positiva com o antígeno brasileiro em quantidades muito menores que com o antígeno americano.

Quadro 2

Cabrito Jequerí....	Soro diluição........................	1.4	/18	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
	Antígeno brasileiro (diluído a 1/10 em doses decrescentes)..................	0,25	0,20	0,15	0,10	0,08	0,05	0,01
	Resultado...........................	+	+	+	+	+	0	0
	Antígeno smericano (R.M.S.F.) (diluído a 1/6 em doses decrescentes)......	0,25	0,20	0,15	0,10	0.05	0,05	0,01
	Resultado...........................	+	+	+	+	+	0	0
Cobaio n.º 7 225...	7.º dia de reação febril (40,8°C). Raça V.B. — Virus de passagem de origem humana 27/7,55							
	Sôro diluição........................	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
	Antígeno brasileiro (diluição 1/6)......	0,25	0‘20	0,15	0,10	0,08	0,05	
	Resultado...........................	++	++	+	++	++	++	
	Antígeno americano (R.M.S.F.) (diluição 1/6)........................	0,25	0,15	0,10	0,08	0,05	0,05	
	Resultado...........................	++	++	++	0	0	0	
M. Rhesus n.º 1...	Julho 1955. Doença experimental com a taça V.B. de passagem e de oirgem humana. 8.º dia de moléstia. Temperatura 40,9°C. Sangria a branco. Lesões típicas. O sangue dêste macaco, passado para outras cobaias, provocou moléstia típica. A necrópsia do macaco revelou lesões características. Homocultura do sangue do coração do Rhesus ficou estéril a 37°C, durante 72 horas.							
	Sôro diluição...........	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
	Antígeno brasileiro (diluição 1/6)........	0,25	0,20	0,15	0,10	0,08	0,08	0,01
	Resultado...........................	++	++	+	0	0	0	0
	Antígeno americano (diluição 1/6)....	0,25	0,20	0,15	0,10	0,08	0,05	0,01
	Resultado...........................	0	0	0	0	0	0	0
Cobaio n.º 5 005..	Raça V.B. de passagem de origem humana. 5.º dia de doença experimental. Temperatura 41°C.							
	Sôro diluição........................	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
	Antígeno brasileiro (diluição a 1/6 em doses decrescentes)..................	0,25	0,20	0,15	0,10	0,08	0,05	0,01
	Resultado...........................	0	0	0	0	0	0	0
	Antígeno americano (R.M.S.F.) (diluído a 1/6 em doses decrescentes).....	0,25	0,20	0,15	0,10	0,08	0,05	0,01
	Resultado...........................	0	0	0	0	0	0	0
Cobaio n.º 5 006..	Raça V.B. de passagem de origem humana. 5.º dia de doença experimental. Temperatura 40,2°C.							
	Sôro diluição........................	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
	Antígeno brasileiro (diluição a 1/6 em doses decrescentes)..................	0,25	0,20	0,15	0,10	0,08	0,05	0,01
	Resultado...........................	0	0	0	0	0	0	0
	Antígeno americano (R.M.S.F.) (diluído a 1/6 em doses decrescentes).....	0,25	0,20	0,15	0,10	0,05	0,05	0,01
	Resultado...........................	0	0	0	0	0	0	0
M. Rhesus n.º 2...	Julho 1955. Doença experimental com a raça V.B. de passagem e de oirgem humana. 10.º dia de doença. Temperatura 39,7°C. Sangria no coração. A sementeira ficou estéril durante 72 horas a 37°C. A inoculação em cobaia revelou a presença do virus pelas lesões típicas. A necrópsia do Rhesus demonstrou lesões características.							
	Sôro diluição........................	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
	Antígeno brasileiro (diluição 1/6)........	0,25	0,20	0,15	0,10	0,08	0,05	0,05
	Resultado...........................	+	+	0	0	0	0	0
	Antígeno americano (R.M.S.F.) (di-luição 1/6)........................	0,25	0,20	0,15	0,10	0,08	0,05	0,05
	Resultado...........................	0	0	0	0	0	0	0
M. Rhesus n.º 3...	Julho 1955. Doença experimental com a raça V.B. de passagem e de origem humana. 4.º/5.º dias de doença. Temperatura 40,7°C. Sangria a branco. Lesões típicas. A inoculção do sangue em cobaias provocou, nestas, doeçna experimental típica. Sementeira do sangue do coração ficou estéril 72 horas a 37°C.							
	Sôro diluição........................	1,4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
	Antígeno brasileiro (diluição 1/6)........	0,25	0, 0	0,15	0,10	0,08	0,05	0,5
	Resultado.....................	++	++	+	+	+	+	0
	Antígeno smericano (diluição 1/6)......	0,25	0,20	0,15	0,10	0,08	0,05	0,05
	Resultado...........................	+	+	+	0	0	0	0
J. Elias..........	Sôro diluição........................	1,4	1/8	1/16	1/42	1/64	1/128	1/256
	Antígeno brasileiro (diluição a 1%).....	0,25	0,20	0,15	0,10	0,08	0,05	0,05
	Resultado....................	0	0	0	0	0	0	0
	Antígeno americano (R.M.S.F.) (diluição a 1%)........................	0,25	0,20	0,15	0,10	0,08	0,05	0,01
	Resultado...........................	0	0	0	0	0	0	0
	(diluição)...........................	0,25	0,20	0,15	0,10	0,08	0,05	0,01
	Resultado...........................	+	0	0	0	0	0	0
Doente N. J. D...	Setembro 1955							
	Sôro diluição........................	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
	Antígeno brasileiro (diluição 1/6)........	0,25	0,20	0,15	0,10	0,08	0,05	0,01
	Resultado...........................	++	++	++	+	+	+	
	Antígeno americano (R.M.S.F.) (di-lução 1/6)........................	0,25	0,20	0,15	0,10	0,08	0,05	0,05
	Resultado...........................	++	++	+	0	0	0	

G. Cruz	Sôro diluição	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
	Antigeno brasileiro (diluição 1/6)	0,25	0,25	0,25	0.25	0,25	0,25	0,25
	Resultado	+	+	+	+	+	+	+
	Diluído em doses decrescentes	0,25	0,20	0,15	0,10	0,08	0,05	0,01
	Resultado	+	+	+	+	+	0	0
	Antígeno americano (R.M.S.F.) (diluição 1/6)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
	Resultado	+	+	+	+	+	+	+
	Diluído em doses decrescentes	0,25	0,20	0,15	0,10	0,08	0,05	0,01
	Resultado	+	+	+	0	0	0	0

NOTA — Todos os caso humanos eram de formas graves de Tifo exantemático neotrópico no Brasil, com as demais provas para o afastamento de outras entidades mórbidas.

Para completar êste trabalho, devemos dizer que a terapêutica pelos antibióticos — *Aureomycin, Chloromicetin* e *Terramycin* — principalmente esta última, resolveu definitivamente o problema da terapêutica curativa dêsse grupo de doenças, como o D.D.T., Gammexane e Toxafeno o fazem para a profilaxia radical das mesmas.

No caso do Tifo exantemático neotrópico, pelas suas formas graves, o resultado é, realmente, brilhante, bastando afirmar que nunca mais nos foi possível fazer, depois do emprêgo daquela terapêutica, uma única necrópsia em nosso estado, quando, antes, chegamos a praticar 270!

A difusão dos conhecimentos dessa terapêutica pelo interior do estado de Minas Gerais, e penso que no resto do Brasil, fêz com que os doentes sejam tratados no próprio local onde adoecem e foi êsse o motivo pelo qual, em nossas pesquisas, recorremos também aos Rhesus e aos Cobaios para demonstração da nossa tese.

SUMMARY

In this work, the author considers that in Brazil, there exist three forms of the disease of the Exanthematic Typhus group, that have been well studied: Neotropic Exanthematic Typhus, Murine Typhus and "Q" fever. The first of these forms has existed in this country, perhaps, for over five hundred years.

He says that modern antibiotic, Aureomycin, Chloromycetin and, principally, Terramcin have resolved the problem of the therapeutic treatment of the disease. The modern insecticides, D.D.T., Gammexane and Toxafeno have resolved the prophylactic problem.

The author studies minutely the question of denomination, showing, by means of drawing and history, the origin of the diseases, both Norte American and Brazilian. The name Neotropic Exanthematic Typhus (in Brazil, Colombia, United States or India) should substitute the erroneous name "Spotted Fever"; the disease is exanthematic, a very different thing.

He formulates two hypotheses about these diseases: first — it passed from the neotropic to the neartic region, where it acquired individual properties; second — they developed independently in a more rmeote epoch, acquiring each its own characteristics.

The disease is today rather of the neotropic than of the neartic region. As it also exists in India it cannot be named American exanthe-

matic Typhus. The author finds it unnecessary to change the name to "Rikettsioses"; we do not call bacillar dysentery "Schigeloses" or malignant edema "Chlostridiose". The name exanthematic typhus is classic, precise, scientific, expressive and the denomination "neotropical" completes the localisation.

The author thinks that all the diseases of the exanthematic typhus group, in the world had a simple primitive common origin. At first, the rickettsias or the virus had a free life, perhaps in the waters of the marshes or grass-lands. Later, in the struggle for life, came the parasitism of the plants. They became fitoparatifs. The mode of life of the rodents and other wild animals made parasitism possible, in the beginning accidently, later permanently. The primitive forms are in the Tsutsugamushi and in the Murine Typhus.

The greatest differenciation was with historic Typhus, when man clothed himself, making the adaptations louse-man-louse, in a closed cycle. But in many present forms the infestation of man is an accidental fact in the life of the virus; for the latter does not depend on man to complete its own cycle.

In May 1933 the author insulated the strain V.B. in Minas Gerais. From 1933 to 1937 he described the clinical forms, unapparent, mild, serious and violent which he completed in 1940/41, pointing out the necessary for the revision of the epidemiological question of the disease. He showed the existence of real family epidemics of serious forms with seven and twelve cases in the same house. He believes the mild forms are more frequent than the serious ones. In the same year (1933) he verified the *Cimex lectularius* as the carrier of the strain V.B.; in 1934, he showed the *Amblyomma cajennense* naturally infected and also the possibility of the transmission by the *Didelphis marsupialis* carrier of the virus.

From 1935 to 1940 he studied minutely the part played by the dog (*Canis familiaris*) in the epidemiology of the disease, showing that it could become infected through the digestive tract. In 1937 he demonstrated the existence of 3 strains at least: V.B., V.A.$_1$ and V.A.$_2$, of the Brazilian virus, the first being of permanent virulence and the other two in evolution of weak virulence but capable of immunizing against the first.

In 1947 he proved that the goat (*Capra hircus*) could become a host for the virus and transmit it through the milk. In 1948 se showed that the *Amblyomma cajennense* required 36 hours of fixation on the host to inject it, which permitted a rational and individual profilaxy of the disease. On the same occasion he showed that the tick after an infective suction, required a non-infective suction for the host to become, in its turn, infective.

In 1939 he described the Pathologic Anatomy of the disease, calling attention to that which he called the spotted necrosis of the liver.

In 1939-40 he studied the electrocardiogram of the disease. From 40 to 43 he gave a pathologic-anatomic basis to the meningo-encephalo-mielite hemorragic form the disease. The author also showed that the blood collected three days before and sent through the ordinary post still contained the living V.B. strain and could be insulated.

The author thinks that in the cycle of rickettsias, there is an invisible phase (virus) similar to the "L" forms of the bacteria today known to be virulent also. He suggests for this reason, that perhaps in neotropic exanthematic typhus he has had difficulty in getting to see rickettsias in material highly virulent in men and animals, and in the first stages of the microbe in fowl embryons.

The author shows that clinic and pathological anatomy are not sufficient to separate diseases of this group but there is a difference in the epidemiology, in the inoculation of the sheep, the latter being easy to infect with the North American virus, and difficult or impossible with the virulent strain of the Brazilian V.B.

Vaccine with 1 cc. of the Brazilian V.B. samples immunizes 100% of the guinea — pigs agains the V.B. strain at least preventing death. 1 cc of the Parker type of vaccine of the R.M.S.F. only manages to prevent death in 34% of the guinea-pigs reinoculated with the Brazilian V.B. strain. He demonstrates with graphs that crossed immunity cannot be used as a basis to separate types of virus, but only groups. He shows, on the other hand, that the Weil-Felix clearly separates the two diseases — R.M.S.F. and the Brasilian disease.

On the other hand the Reaction of the Fixation of the Complement, with the Brailian and North American antigens, dilluted decreasingly, also with the serum of the Brailian patientes suitably diluted, shows that the Brailian antigens fixes with a smaller quantity of serum than the North American antigens, which confirms the data of preventive vaccination already given.

BIBLIOGRAFIA

Aragão, Henrique Beaurepaire — Ixodidas brasileiros e de alguns países limítrofes — Mem. Inst. Osw. Cruz, XXXI:759-843, 1936.

Beaufort, L. F. — Zoogeography of the land and inland waters — Lidwck and Jackson Ltd., London, 1951.

Blanc, Georges & Baltazard, M. (avec col. de M. A. Donnadieu) — La contamination par voie muqueuse, mécanisme habituel de transmission du typhus murin dans la nature — Bull. de l'Acad. de Méd. — Séance du 27 Juillet 1938, T. 120(27):109.

Blanc, G. — Epidemiologie de la "Q Fever" (coxielose) — Maroc-Médical, (354):33, 1954.

Blanc, G. — Fracastor et le typhus exanthématique — Maroc-Médical,)354): 33, 1954.

Burrow, William — Textbook of Microbiology — 16th Edition — W. B. Saunders Co., Philadelphia-London, 1954.

Cabrera, Angel; Yepes, José — Historia Natural Ediar. Mamiferos Sud-Americanos — Cia. Argentina de Editores — Buenos Aires, 1940.

DICE, LEE R. — What Is Ecology? — The Scientific Monthly, 80(6):346-351, June 1955.

ECKMAN, SVEN — Zoogeography or the sea — Lidwick and Jackson Ltd., London, 1953.

ENCICLOPEDIA ITALANA — Instituto della Enciclopedia Italiana, XXXV: 995-1 003, Roma 1937.

ENCICLOPEDIA AMERICANA — New York-Chicago, 1829-1950, XXIX:725.

FLOREY, SIR HOWARD — Lectures on General Pathology — W. B. Saunders Co. Philadelphia-London, 1954.

GRADWOHL, R.B.H.; SOTO, LUIZ BENITEZ & FELSENFELD, OSCAR — Clinical Triplical Medicine — The C. V. Mosby Co., St. Louis, 1951.

GUIMARÃES, F. NERY & TRAVASSOS, J. — Ação da Terramicina na bouba — O Hospital, XXXVIII(2):295-299, Agôsto 1950.

GUIMARÃES, DJALMA — Arqui-Brasil e sua evolução geológica — Boletim n.º 88 do Ministério da Agricultura. 1951.

HANDURY, P. et al. — Problèmes actuels de virologie — Masson & Cie. Editeurs, 1954.

HARTMANA, FRANK W.; HORSFALL, FRANK L.; KIDD, JOHN G. (Editors) — The dynamics of virus and ricúettsial infections — The Blakiston Co., Inc. (N5w York-Toronto), 1954.

LABORATORIES of Chas. Pfizer & Co., Inc., Brooklyn, N. Y. — Terramycin — A new antibiotic discovered and developed by the research — Enviado por Gladys L. Hobby, 1950.

LACORTE, GUILHERME — Virus pantropicos. O virus da febre de Papataci. Virus da febre das Montanhas Rochosas — Rev. Bras. Med., VII(6):383-388, Junho 1950.

LEITÃO, CANDIDO DE MELLO — Compêndio brasileiro de Biologia. Vol. II: Zoologia — Cia. Editôra Nacional. São Paulo, 1942.

MAGALHÃES, OCTAVIO DE & ROCHA, ADYR — Raças do virus do tifo exantemático neotrópico no Brasil — Rev. Bras. Biol., 3(1);67-82, Março 1943.

MAGALHÃES, OCTAVIO & ROCHA, ADYR — Subsídio para o conhecimento das doenças do grupo tifo exantemático no Brasil (Nota Prévia) — Brasil Médico, 63(32-33) 6-13, Agôsto 1949.

MAGALHÃES, OCTAVIO DE — Contribuição ao conhecimento das doenças do Grupo Tifo exantemático no Brasil — Brasil Médico (6-9):47-51, 6-27, Fevereiro 1954.

MANVILLE, RICHARD H. — An Outline of Zoogeography — Michigan State College Press, 1952.

MARMION, B. P. — Q Fever. II Natural History and Epidemiology of "Q" Fever in Man — Transact. of the Royal Soc. of Trop. Med. & Hyg., 48(3): 197-207, 1954.

MONTEIRO, J. LEMOS — Vacina contra o "Typho Exantemático de São Paulo — Mem. Inst. Butantan, VIII:11-20, 1933-1934.

MONTEIRO, J. LEMOS — Contribuição ao estudo das relações imunológicas entre o Tifo exantemático de São Paulo e demais febres exantemáticas que ocorrem na América do Sul — Mem. Inst. Butantan, VIII:197-206, 1933-1934.

MONTEIRO, J. LEMOS — O "Typho exanthematico" de São Paulo e suas relações com a febre maculosa das Montanhas Rochosas, à luz das provas de Imunidade cruzada — Mem. Inst. Butantan, VIII:209-220, 1933-4.

OGINSKY, EVELYN L. & UMBREIT, WAYNE W. — An Introduction to Bacterial Physiology — W. H. Freeman and Co., U.S.A. — San Francisco 1954.

Pereira, H. G.; Cardoso, Humberto & Travassos, J. — Resultados inespecíficos da reação de fixação do complemento com antígenos rickettsiosos não purificados em cães — O Hospital, XXXIX(3):316-321, Março 1951.

Pereira, H. & Travassos, J. — Estudo comparativo das rickettsioses de febre maculosa das Montanhas Rochosas e do Tifo de São Paulo, pela reação de fixação do complemento — O Hospital, XL(1): 88-91, Julho 1951.

Price, Winston H. — A Quantitative Analyse of the Factors envolved in the variation in virulence of rickettsiae — Science, 119(3 054): 49-52, July 10, 1953.

Price, Winston H.; Johnson, James W.; Emerson, Hope & Preston, Elaine E. — Rickettsial interference phenomenon. A new protective mechanism. Science, 120(3 116):457-459, 17 September 1954.

Rivers, Thomas M. — Viral and Rickettsial infections of man — J. B. Lippincott Co. (Philadelphia-London-Montreal), 1948.

Simons, James Stevens & al. — Global Epidemiology — B. Lippincott Co., 1944.

Simpson, G. G. — Turtles and the origin of the fauna of Latin America — Amer. Jour. Sci., 241(7):413-429, 1943.

Simpson, G. G. — History of the fauna of Latin America — Amer. Scientist, 38(3):367-389, 1950.

Simpson, G. G. — Horses — Oxford University Press, 1951 — New York, N. Y.

Simpson, George Gaylord — Evolution and Geography — Condon Lectures — Eugene, Oregon, 1953.

Sioli, Harald — O Rio Cupari. I. Topografia e Hidrografia — Vol. Téc. Inst. Agron. Norte (17):3, Set. 1949.

Sioli, Harald — Alguns resultados e problemas de Limnologia Amazônica — Bol. Téc. Inst. Agron. Norte (24):3, Junho 1951.

Sioli, Harald — Sôbre a sedimentação na várzea do baixo Amazonas — Bol. Téc. Inst. Agron. Norte (24):3, Junho 1951.

Sioli, Harald — Estudo preliminar das reações entre a Geologia e a Limnologia da zona Bragantina (Pará) — Bol. Téc. Onst. Agron. Norte (24: Junho 1951.

Smith & Martin — Zinsser's textbook of Bacteriology — 9th Edition — Appleton-Century-Grofts, Inc., New York, 1948.

Soule, Malcolm H. (Organizer) — Rickettsial diseases of man — Editted by Moulton, Forest Ray, 1948.

Soule, Malcolm H. — Rickettsial diseases of man — Symposium organized by Amer. Assoc. for Adv. of Sci., 1948.

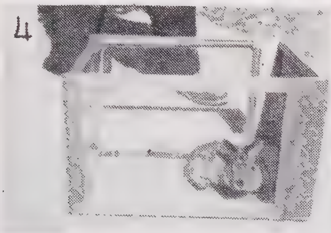
Strode, George K. — Y5..w Fever — Eited by G.K.S. — McGraw-Hill Book Co., 1951.

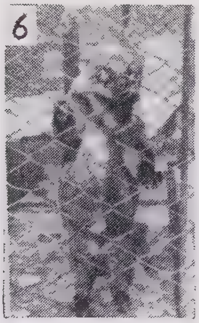
Tulasne, Robert — II. Bilan de nos connaissences sur les cycles bactériens du type L et sur les formes L des bactéries — Biologie Médicale, XLV(4): 391-425, 53.e année, Juin-Juillet 1955.

Walter, H. V. — A Pré-História da Região da Lagoa Santa (Minas Gerais) — Of. Gráf. da Papel. e Tipogr. Brasil. Belo Horizonte, 1948.

White, M.J.D. — Animal cytology and evolution — Cambridge University Press, 2nd Edition, 1954.

ESTAMPA 1





DEPOSITÁRIOS DE VIRUS

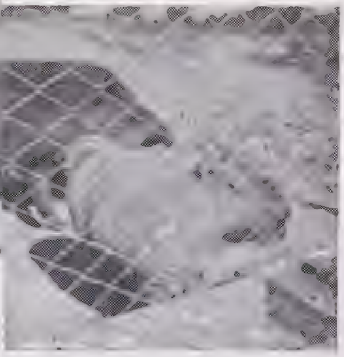
1. *Homo sapiens*
2. *Canis familiaris*
3. *Felis domestica*
4. *Silvilagus brasiliensis*
5. *Cerdocyon thous*
6. *Nasua solitaria*
7. *Cuniculus paca*

8

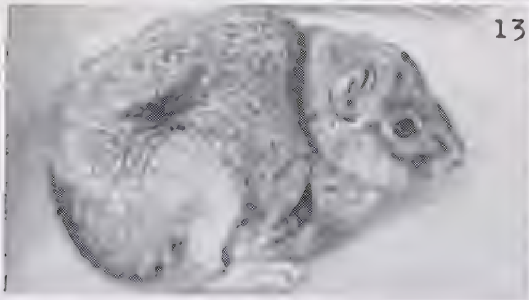
9

10

11



13



DEPOSITÁRIOS DE VIRUS

8. *Didelphis* { *paraguayensis* / *aurita* / *marsupialis*

9. *Cervus axis* e *Mazama simplicicornis*

10. *Capra hircus*

11. *Tapirus terrestris*

12. *Hydrochoeurus hydrochoeris*

13. *Kerodon rupestris*

O Centro de Estudo e Profilaxia de Moléstia de Chagas, em Bambuí, Estado de Minas Gerais

Notícia histórica em homenagem ao Professor Henrique Aragão

Emmanuel Dias *

(Com 19 figuras.)

> *"O centro de Bambuí para combate e profilaxia da Moléstia de Chagas é um dos grandes capítulos da obra humanitária de Manguinhos."*
>
> (Instituto Oswaldo Cruz, 1948, p. 12, *1*).

INTRODUÇÃO

Ao ensejo da homenagem que rende o Instituto Oswaldo Cruz ao seu Diretor Emérito, Professor Dr. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ROHAN ARAGÃO, dedicando-lhe volumes de suas "Memórias", sentimos que de forma alguma poderíamos deixar de contribuir com mais êste artigo, no qual focalizamos uma de suas mais notáveis realizações quando na direção da Casa de OSWALDO CRUZ, a que durante tantos anos tem sabido servir com proficiência, dedicação e idealismo verdadeiramente exemplares.

Ao nosso escopo foge tentar a apreciação, sequer sumária, da obra do eminente cientista e, muito menos, e de sua grande personalidade.

Mas impossível seria não ressaltar, de início, ao menos uma das características mais marcantes de sua atuação à frente de Manguinhos, qual seja a de procurar dar cunho eminentemente objetivo aos trabalhos das equipes sob seu comando. Pesquisador de escol, tendo legado a chamada ciência pura aquisições da mais alta valia, jamais descurou, na sua orientação, de problemas práticos de tôda ordem, sobretudo daqueles que primavam por um sentido humanitário. Disso propor-

---

* Chefe da Seção de Inquéritos e Trabalhos de Campo, Divisão de Estudos de Endemias, do Centro de Estudos e Profilaxia da Moléstia de Chagas, Bambuí, I.O.C. e do Pôsto Experimental de Esquistossomose, S.N.M.

Recebido para publicação a 14 de Dezembro de 1955.

cionou inúmeros exemplos, que impuseram seu nome à admiração geral e o deixarão para sempre ligado à história do nosso Instituto.

Atento às realidades do país (*essa vigorosa natureza tropical, em que tanto abundam os fatôres da criação e da vida como os da destruição e da morte,* no dizer de Carlos Chagas), buscando nortear sempre sua conduta pelas mais nobres tradições oswaldianas, teria fatalmente Henrique Aragão que empolgar-se pelos graves problemas das endemias rurais. E tanto assim foi, que fêz com que se organizassem, em zonas estratégicas do interior, postos fixos para o estudo, sob todos os aspectos mas principalmente o profilático, da doença de Chagas, da bouba, da esquistossomose e do bócio endêmico, tornando, dêsse modo, "a ação da casa de Oswaldo presente nos mais longínquos rincões da Pátria e fiel aos objetivos de seu fundador" (1).

Ao homenagear, com esta modesta contribuição, o grande diretor, queremos deixar constância de nossa convicção de que o seu papel primacial, junto às mais novas e futuras gerações de servidores de Manguinhos, tem sido o de ensinar, em preciosos escritos e em vívidas lições, as normas mais puras das tradições legadas por Oswaldo Cruz, de que é, sem dúvida, o mais nobre e venerável representante. E àqueles a quem foi negada a ventura de lidar com o fundador do Instituto, mas que tiveram o privilégio de privar com êste seu digno sucessor, não escaparão afinidades inildíveis entre Oswaldo e Aragão, ao lerem os flagrantes que do perfil do Mestre traçou, em linhas imarcescíveis, êsse outro fiel discípulo, Ezequeiel Dias (66).

CRIAÇÃO DO CENTRO DE BAMBUÍ

"Semelhante iniciativa, ainda sem par nos anais científicos, vinha sendo visada pelo Dr. Henrique Aragão desde que foi indicado para o elevado cargo a que honra e constitui uma das melhores provas do descortínio e do espírito empreendedor do atual Diretor de Manguinhos" — eis como nos expressamos em 1945 (13), ao relatar a fundação do Centro. A repetir antecedentes e fatos então expostos, preferimos e devemos aproveitar a ocasião que se nos oferece para divulgar outros, de interêsse não só para o conhecimento da história do pequeno núcleo de trabalho, como para ilustrar a atuação, nesse particular, do notável cientista, a quem tanto deve o engradecimento do Instituto Oswaldo Cruz.

Por fôrça mesmo do empenho do Diretor em organizar um pôsto para o estudo da esquizotripanose em Minas Gerais — enquanto respondíamos pelo expediente do antigo Serviço de Estudos das Grandes Endemias, criado pelo saudoso Evandro Chagas — estávamos em contacto com colaboradores do Serviço ali e, em 4 de junho de 1942, escrevíamos ao Dr. A. Viana Martins:

"Daqui por diante devemos ter sempre em mente o estudo das medidas contra os triatomíneos, pois já é mais que tempo de tentar-se a execução de medidas de profilaxia da doença. Parece que com a instalação do Pôsto em Bambuí, teremos condições muito favoráveis para os primeiros ensaios".

Depois de referir a cessão, pelo Dr. Fred L. Soper, de um aparelho para aplicação de inseticidas, e de recomendar a utilização de uma mistura composta por extrato de pirêtro, tetracloreto de carbono e óleo Diesel ou querosene, concluímos:

"Devido à longa duração do ciclo do barbeiro, talvez com um número muito pequeno de aspersões anuais possa conseguir-se a *desbarbeirização* completa, ou quase completa, o que sem dúvida representará um benefício para os habitantes das privilegiadas zonas em que o trabalho possa ir sendo organizado e mantido. O essencial, por ora, é procurarmos estabelecer as medidas práticas que possamos recomendar como úteis. Esta parte deve tomar um lugar destacado no nosso programa de trabalho e as experiências devem ser multiplicadas, com o fim de chegarmos o mais ràpidamente possível a uma conclusão".

A bem da verdade cumpre confessar que, mercê de inteligente trabalho de persuasão, acabou o Professor Henrique Aragão por induzir-nos a aceitar a incumbência de nos ocuparmos pessoalmente dessas pesquisas de campo, vencendo dessa forma, e não pela autoridade, a relutância que, por motivos vários, vínhamos oferecendo à sua proposta de enfrentarmos a tarefa, de êxito problemático e não isenta de sacrifícios, de ir investigar, em lugar distante, as possibilidades da luta contra a doença de Chagas.

Julgou êle de bom alvitre que, antes de nos trasladar a Bambuí, nos preparássemos melhor para o estudo clínico da moléstia, para o que fizemos, em 1943, os cursos de cardiologia do Prof. Oscar Ferreira e do Prof. E. Magalhães Gomes. Era assistente dêste o Dr. Francisco da Silva Laranja, cardiologista do Instituto dos Industriários, que depois se tornou nosso grande colaborador e que, requisitado pelo Dr. Henrique Aragão, ficou por vários anos à disposição do Instituto Oswaldo Cruz, que chegou a dirigir em 1954.

Nossa primeira designação para servir em Bambuí foi afinal efetuada pela Portaria n.º 240, publicada no Boletim do Pessoal de 24 de dezembro de 1943:

> "O Diretor do Instituto Oswaldo Cruz, usando das atribuições que lhe são conferidas pela letra *l,* do artigo 20, do Regimento que baixou aprovado pelo Decreto n.º 10 252, de 14 de agôsto de 1942, resolve:
>
> I — Designar o Biologista da Classe L, do Q.S. do Ministério da Educação e Saúde, Emmanuel Dias, matrícula n.º 218 203, para realizar estudos sôbre a Moléstia de Chagas no Município de Bambuí, Estado de Minas Gerais, durante o prazo de 30 dias, a partir do dia 25 de novembro do corrente ano;
>
> II — Sem indenização de diárias.
>
> Rio de Janeiro, em 24 de novembro de 1943. (a) Henrique de Beaurepaire Rohan Aragão, Dr., Diretor Interino".

Logo a seguir dávamos início ao trabalho, que teve como única formalidade oficial um telegrama que passamos ao nosso Diretor em 2 de dezembro de 1943, Dia Panamericano da Saúde:

"Tenho honra comunicar a Vossa Senhoria haver iniciado nesta cidade trabalhos preliminares investigações meios combate aos transmissores da moléstia de Chagas. Respeitosas saudações."

O Boletim da Oficina Sanitária Panamericana de maio de 1944 assim registra os acontecimentos do IV Dia Panamericano da Saúde:

> "BRASIL — Por ocasião da data consagrada como Dia Panamericano da Saúde em tôdas as Repúblicas americanas, solenizou-se em todo o Brasil a inauguração de instalações e serviços ligados à saúde e a conclusão de tarefas de real importância no mesmo setor, assim procurou o Dr. João de Barros Barreto, Diretor Geral do Departamento Nacional de Saúde, dar um sentido sumamente objetivo ès comemorações do dia 2 de dezembro. Entre outras funções realizaram-se as seguintes: O Instituto Oswaldo Cruz começou em Bambuí o primeiro ensaio experimental de campanha contra a doença de Chagas"...

SEDES DE FUNCIONAMENTO

Muito importa relatar, na presente oportunidade, o que se passou em relação aos locais em que funcionou o Centro de Estudos e Profilaxia de Moléstia de Chagas em Bambuí, que nunca pensamos chegasse ao desenvolvimento depois atingido.

Durante as primeiras semanas os trabalhos foram efetuados no Hospital Nossa Senhora do Brasil, cujo laboratório foi gentilmente deixado à nossa disposição pelo seu diretor, Dr. Antônio Tôrres. Cumpre, aliás, declarar que até hoje contamos com a irrestrita colaboração dêste e dos demais ilustres colegas bambuienses.

Em fins de dezembro de 1943 passamos a ocupar uma pequena casa alugada (fig. 1), sita à rua dos Expedicionários, onde o Centro funcionou durante 7 anos. A despeito da precariedade das instalações, os trabalhos puderam ser satisfatòriamente desenvolvidos, pois àquela época ocupávamo-nos sobretudo de serviços externos relacionados com a experimentação de inseticidas e de estudos clínicos e electrocardiográficos de pacientes com doença de Chagas, cujo número ia sempre aumentando.

Aí possìvelmente ainda continuaríamos, se por motivos alheios à nossa vontade não nos víssemos na contingência de ter que deixar a referida habitação, do que poderia resultar a cessação das atividades do Centro, tal a dificuldade de se encontrarem acomodações na cidade. Inteirado dos fatos, o Professor Henrique Aragão teve a idéia de apelar para o Govêrno do Estado de Minas, no sentido de mandar construir uma sede adequada para o Pôsto, de modo não só a evitar a suspensão dos trabalhos, como a proporcionar condições mais favoráveis ao seu desenvolvimento.

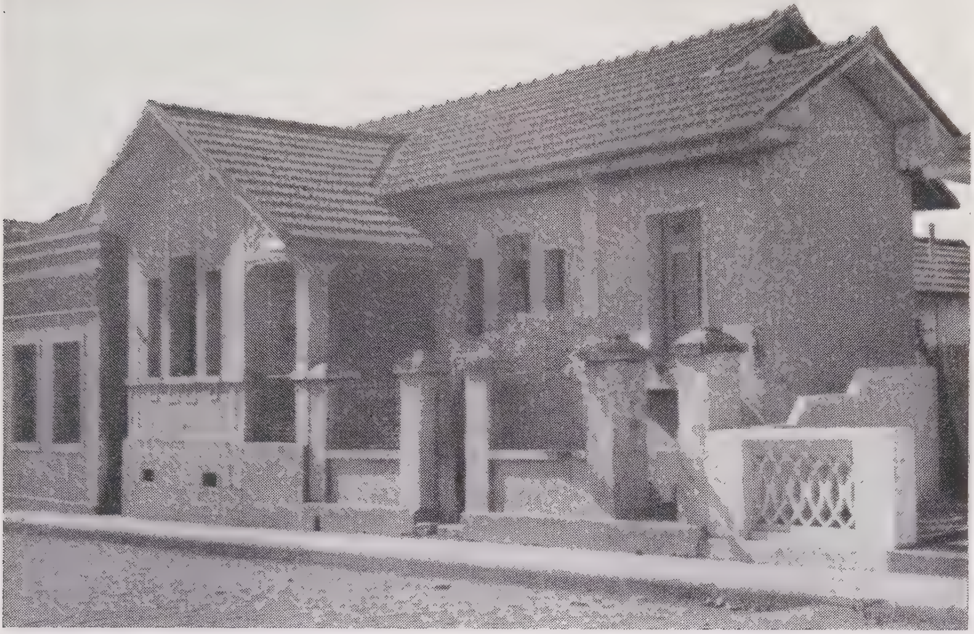


Fig. 1 — Casa à rua dos Expedicionários, Bambuí, onde durante 7 anos funcionou o Centro de Profilaxia de Moléstia de Chagas.

Assim, em julho de 1947 fomos recebido, em companhia do Prefeito de Bambuí, Dr. JADYR BRITO DA SILVA, pelo Governador MILTON SOARES CAMPOS, a quem demos ciência da louvável pretensão do Diretor de Manguinhos. Sua Excelência, que já sabia das atividades do Instituto naquele município prontamente aquiescem em reconhecimento aos benefícios... advindos dessas mesmas atividades, em mandar edificar a sede solicitada, do que encarregou o antigo Departamento Estadual de Saúde, que era dirigido pelo Dr. MÁRIO MENDES CAMPOS. Recomendou o Governador, mui ponderadamente, que fôsse estudado um projeto modesto, porém realizável. A "Folha de Minas", de Belo Horizonte, publicou em 3 de outubro de 1949 a seguinte notícia a propósito, enviada por seu correspondente em Bambuí:

> "O Govêrno do Estado, em cooperação com o Instituto Oswaldo Cruz, vem desenvolvendo amplas atividades contra a doença de Chagas.
>
> Por determinação do Governador MILTON CAMPOS, que se acha vivamente interessado em facilitar os trabalhos daquele Instituto e incrementar os serviços de cooperação, será construído nesta cidade um prédio para servir de sede própria ao Centro de Estudos e Pesquisas da Doença de Chagas. Com a nova sede e as amplas e confortáveis instalações, êsse serviço poderá alcançar ainda maior êxito em seus estudos e esforços."

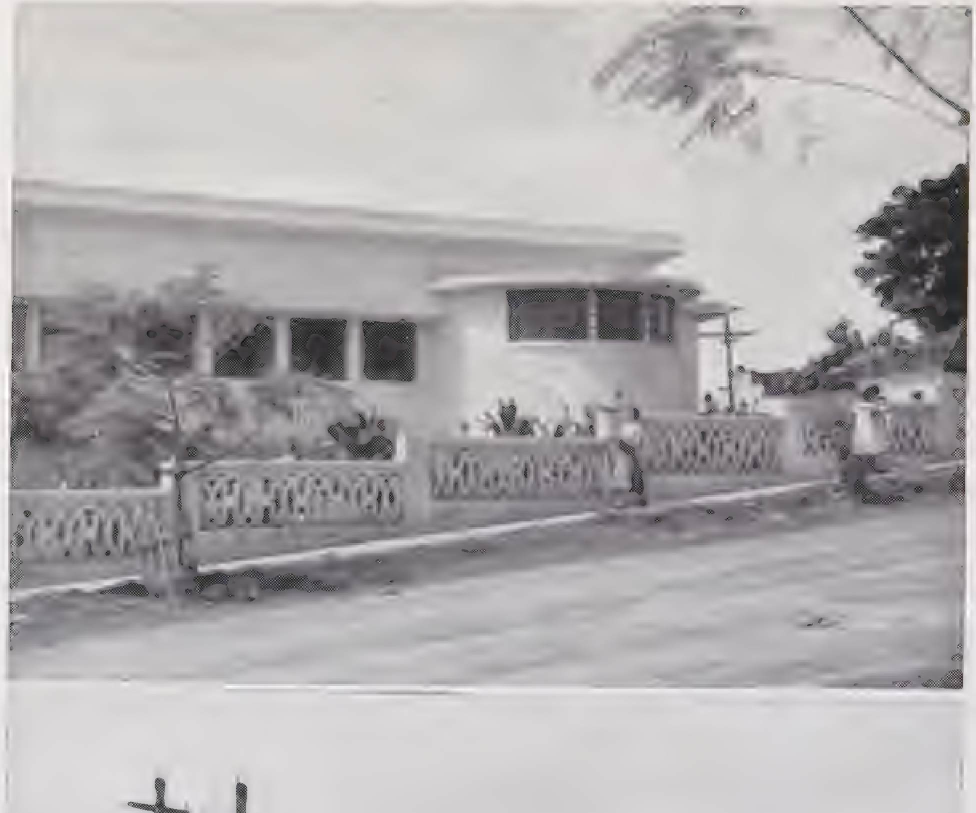


Fig. 2 — Prédio construído pelo Govêrno do Estado de Minas Gerais e doado ao Instituto Oswaldo Cruz pelo Governador Juscelino Kubischeck, para sede do Centro de Bambuí. Fachada da Avenida Melo Viana, ao alto, e da Rua Ezequiel Dias.

Foi construído um pequeno prédio (fig. 2) em estilo moderno, cujo projeto, baseado nas necessidades do trabalho nessa época, foi superintendido pelo Dr. Gil Lemos, Chefe do Departamento de Engenharia Sanitária. Acha-se êle situado em parte central da cidade, na esquina da avenida Melo Viana com a rua Ezequiel Dias, em terreno cedido pela Municipalidade, à qual se deve também a tocante iniciativa de mudar para Ezequiel Dias o nome da antiga rua Bôa Vista.

A ocupação da nova sede veio a dar-se em janeiro de 1951, a ela também se processou dentro dos moldes de antigas praxes, às quais assim alude Henrique Aragão (5-a):

> "Uma espécie de tradição que se instituiu... em Manguinhos, instintiva e religiosamente cumprida, foi a de jamais se realizarem solenidades de lançamento de pedras fundamentais e inaugurações festivas. E, desde Oswaldo até o presente, a mesma norma vem sendo observada. Uma vez concluídas as obras e instalações... vão os pesquisadores ocupando os laboratórios que lhes são destinados e prosseguindo seus trabalhos com o mesmo ritmo em ambiente que lhes proporcionam melhores rendimentos."

Pouco depois de assumir o Govêrno do Estado, o Dr. Juscelino Kubitschek de Oliveira houve por bem, atendendo de imediato a uma solicitação nossa, pois o Professor Henrique Aragão infelizmente já havia deixado a diretoria do Instituto Oswaldo Cruz, mandar completar e ampliar as obras do Centro pela Secretaria de Saúde e Assistência, a cargo, então, do Dr. Mário Hugo Ladeira. Governador e Secretário tinham pleno conhecimento dos trabalhos ali desenvolvidos e dos seus resultados, pois o Centro recebera a visita do Dr. Hugo Ladeira, mais tarde repetida.

A parte funcional do pequeno edifício consta de consultório médico com instalações para eletrocardiografia, sala de Raios X (fig. 3), câmara escura, arquivos, sala de chefia, secretaria, laboratórios para análises, microscopia, histologia e entomologia. Há aposentos para acomodação de estagiários ou visitantes. Na parte térrea acham-se depósitos, quartos para servidores ou doentes eventuais. Externamente, há um pequeno pavilhão para preparo de meios de cultura (figs. 5 e 6 com quarto-estufa, salas de microscopia e esterilização, além de garage, gaiolas para animais e tanques para caramujos.

Na parte relativa a equipamento material, não poderia ser silenciada a colaboração prestada ao Centro pelo Serviço Nacional de Malária, pelo Conselho Nacional de Pesquisas e pelo Serviço Nacional de Tuberculose. Graças a estas instituições acham-se nêle instalados um ótimo aparelho de Raios X "Tetraval" de 250 miliampères com gerador e dispositivo de 70 mm para abreugrafia, um Viso-Cardiette Samborn, autoclaves, estufas, etc., que completam o equipamento fornecido pelo próprio Instituto. Assim, é justo que não deixemos passar

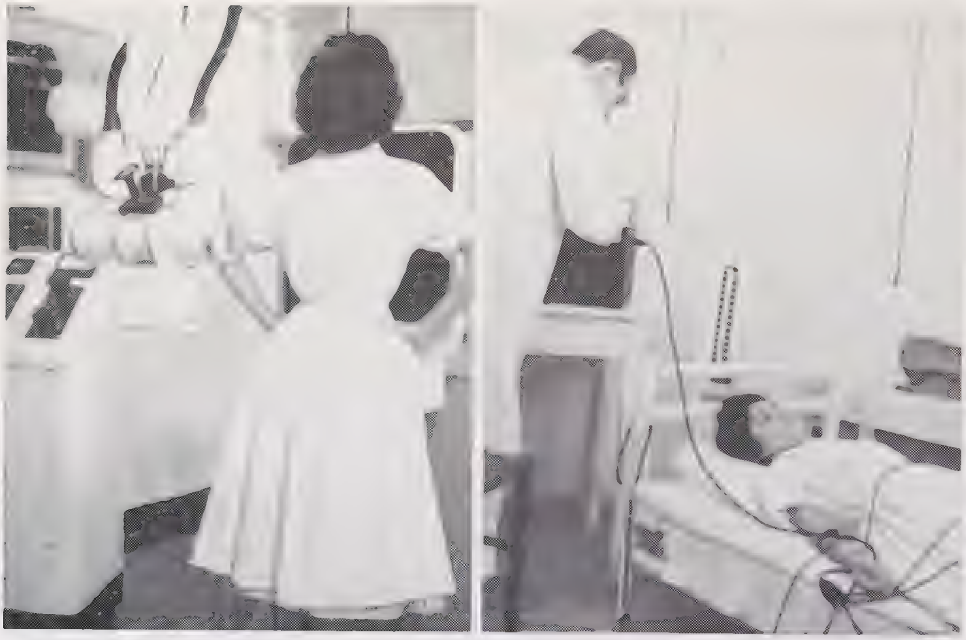


Fig. 3 — O Centro acha-se bem aparelhado, com instalações de Raios X e eletrocardiografia.

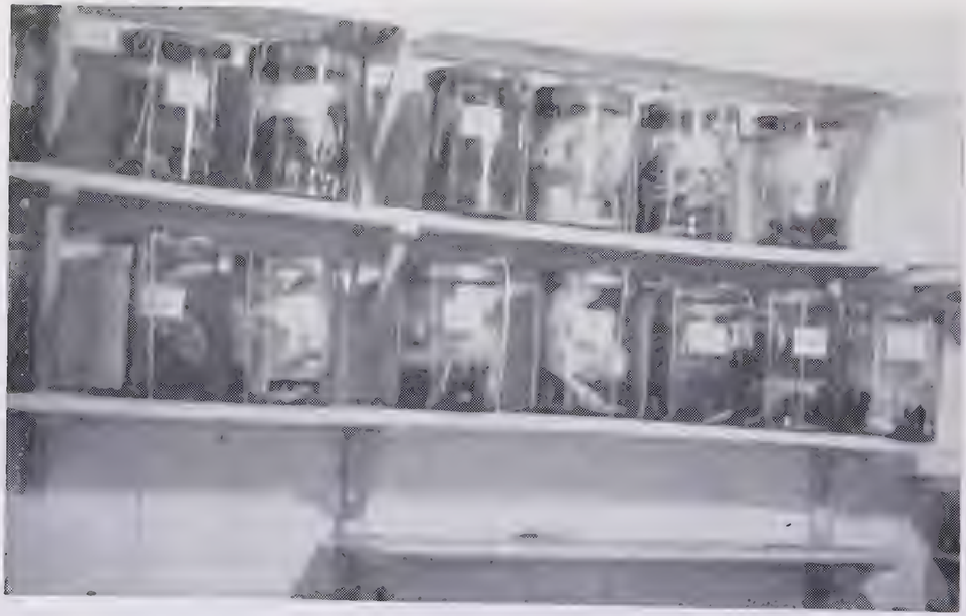


Fig. 4 — Alimentação de barbeiros em frangos. Estudos sôbre a biologia do *Triatoma infestans*.

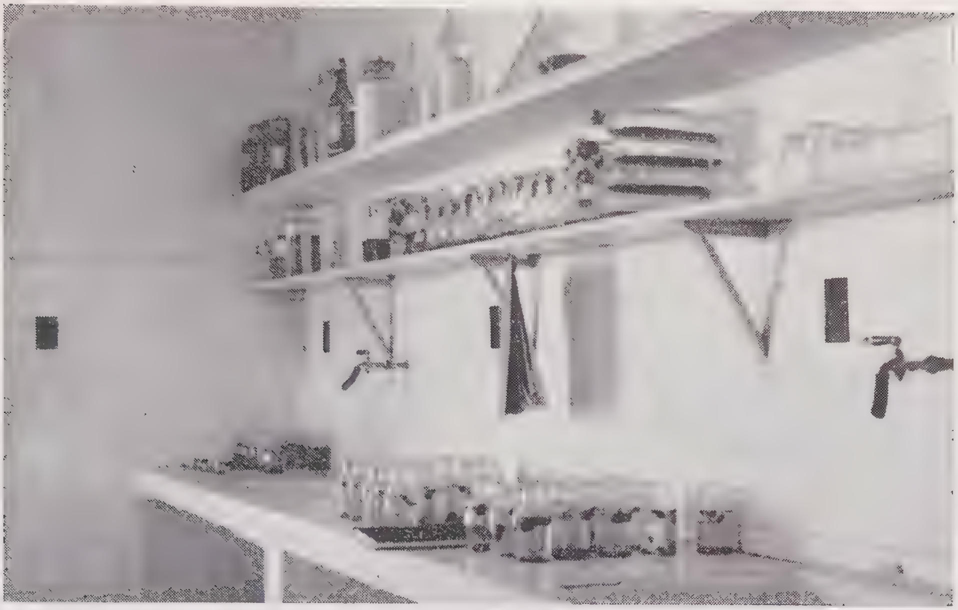


Fig. 5 — Laboratório para estudo da ação de bactérias sôbre os caramujos transmissores da esquistossomose.

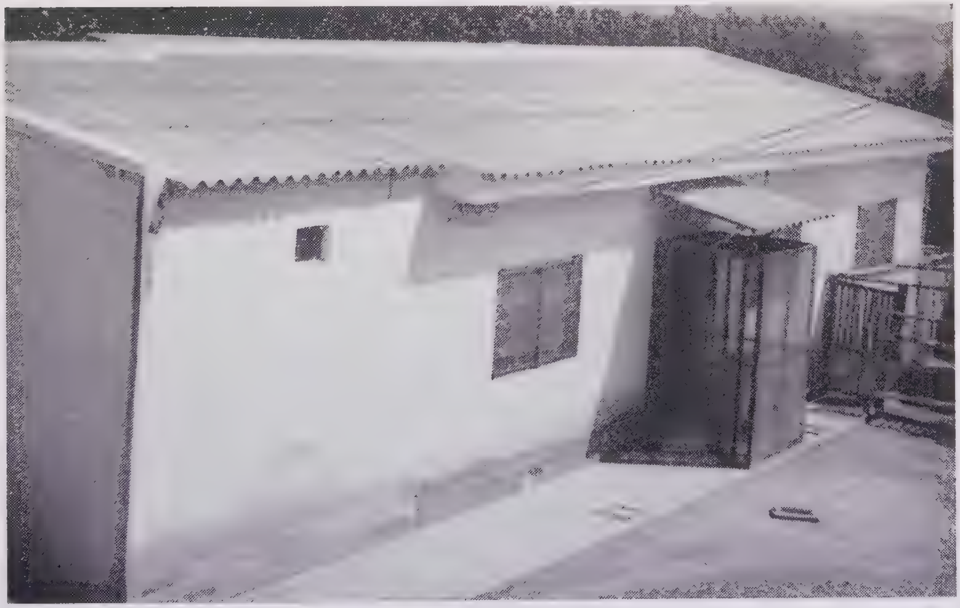


Fig. 6 — Pavilhão para preparo de meios de cultura.

esta ocasião sem manifestar, mais uma vez, nosso reconhecimento aos grandes homens então à frente das referidas entidades, Dr. MÁRIO PINOTTI, Almirante ÁLVARO ALBERTO, Prof. MANOEL PEREIRA FILHO e Professor HENRIQUE ARAGÃO.

Em 1954 o ilustre Governador de Minas Gerais, Dr. JUSCELINO KUBITSCHEK DE OLIVEIRA, houve por bem, procurando assegurar maior continuidade às pesquisas do Centro, que reputava de alto interêsse para o Município e o Estado, propor a doação do prédio e de terreno anexo ao Ministério da Saúde, o que fêz na Mensagem Especial n.º 1 167 dirigida ao Presidente da Assembléia Legislativa em 22 de fevereiro de 1954 (v. Diário da Assembléia de 13 de março). A doação proposta foi aprovada e afinal consumada pela Lei n.º 1 093, de 8 de junho do mesmo ano, publicada no "Minas Gerais" do dia imediato, a qual

Autoriza a aquisição e doação de imóveis destinados ao Instituto Oswaldo Cruz em Bambuí

> "O Povo do Estado de Minas Gerais, por seus representantes, decretou e eu, em seu nome, sanciono a seguinte Lei:
>
> Art. 1.º — Fica o Govêrno do Estado autorizado a adquirir, pela importância de Cr$ 30 000,00 (trinta mil cruzeiros) o terreno com a área de 485 metros quadrados e respectivas benfeitorias, de propriedade de Matilde Maria da Silva, sito na cidade de Bambuí, com frente para a rua Ezequiel Dias.
>
> Art. 2.º — Fica o Govêrno do Estado autorizado a doar à União, para funcionamento do Instituto Oswaldo Cruz, e ampliação de suas instalações e serviços, o atual prédio pelo mesmo Instituto ocupado, em Bambuí, bem como o imóvel mencionado no artigo anterior.
>
> Art. 3.º — Para ocorrer às despesas resultantes da presente Lei, fica aberto, à Secretaria das Finanças, o crédito especial de Cr$ 30 000,00 (trinta mil cruzeiros), podendo o Govêrno realizar, para êsse fim, se necessário, operação de crédito.
>
> Art. 4.º — Revogadas as disposições em contrário, entrará esta lei em vigor na data de sua publicação.
>
> Mando, portanto, a tôdas as autoridades, a quem o conhecimento e execução desta Lei pertencer, que a cumpram e façam cumprir, tão inteiramente como nela se contém".
>
> Dada no Palácio da Liberdade, Belo Horizonte, em 8 de junho de 1954.
>
> (a) JUSCELINO KUBITSCHEK DE OLIVEIRA
> ODILON BEHRENS

Nossos agradecimentos foram oportunamente expressos ao eminente Governador e depois reiterados ao seu sucessor, Dr. CLOVIS SALGADO, a quem couberam as providências finais da doação, pelo atual Diretor do Instituto Oswaldo Cruz, Dr. ANTONIO AUGUSTO XAVIER.

Nesta oportunidade cumpre-nos manifestar nosso reconhecimento ao Dr. EDGARD COSTA AMORIM, Diretor da Divisão do Orçamento do DASP, que após uma visita a Bambuí em companhia do Dr. MÁRIO PINOTTI, possibilitou a obtenção de verba orçamentária para a aquisição de um outro terreno junto ao Centro, para sua futura ampliação, de acôrdo com esplêndido projeto feito pela Divisão de Obras do Ministério da Saúde, quando da gestão dêste eminente sanitarista.

DESENVOLVIMENTO DOS TRABALHOS

Escapa, naturalmente, aos limites e propósitos dêste artigo o relato das atividades levadas a cabo pelo Centro, nos seus 12 anos de funcionamento. O que fôr aqui referido, se-lo-á com o fito de ilustrar a ação orientadora do Professor HENRIQUE ARAGÃO, para o que lançaremos mão, de preferência, de suas próprias palavras, certo mais fiéis reveladoras de seus notáveis atributos, e mostrar os frutos desta sua grande iniciativa.

O desenvolvimento dos trabalhos foi sempre acompanhado por êle — e ainda continua a sê-lo — com o maior interêsse, tendo-nos sido de máxima valia os conselhos de sua experiência e o constante estímulo que nos prodigalizou, do que poderiam ser dados inúmeros exemplos.

Apenas transcorrido o primeiro mês de labuta e já nos telegrafava, em 15 de dezembro de 1943: "Vejo que tudo se está encaminhando bem e estou muito animado e satisfeito com o trabalho já realizado."

Quase um ano depois, informando sôbre as homenagens que se preparavam a CARLOS CHAGAS por motivo do transcurso do 1.º aniversário de seu falecimento, "Lembro conveniência você fazer conferência Instituto dia 8 novembro sôbre seus trabalhos em Bambuí, que estou certo interessará muito a todos."

Mas só nos achamos definitivamente comprometido com a iniciativa do nosso Diretor e lhe sentimos, mais do que nunca, a responsabilidade, quando verificamos que fizera, em seu relatório de serviço do ano de 1943, esta lacônica informação:

"... foi escolhida a cidade de Bambuí, no Oeste de Minas, para o primeiro centro de profilaxia da moléstia de Chagas a ser instalado, o qual *será o núcleo fundamental de todos os futuros trabalhos de combate ao mal.*"[2]

No relatório concernente ao ano de 1944 (3) é com minúcia que o Professor HENRIQUE ARAGÃO expõe o resultado das atividades do Centro, sendo digna de nota a confiança que desde então demonstrava no êxito final da luta contra os triatomas (grifo nosso, como o precedente):

> "Os estudos sôbre a moléstia de Chagas ganharam grande desenvolvimento devido à criação do centro de estudos de Bambuí, em Minas Gerais, que se vai tornando um ponto excelente para as investigações tanto que, em um ano de trabalho, tem revelado numerosos casos em estado agudo e crônico da moléstia, num total de 84... Numerosos doentes, em período

> agudo, dêsse foco, puderam ser trazidos ao nosso Hospital para estudos e outros foram estudados "in loco", com resultados muito auspiciosos e úteis para o melhor conhecimento dessa entidade mórbida. Ao mesmo tempo que se cuida da parte clínica da moléstia, têm sido feitas observações sôbre seus transmissores...
>
> Outra parte muito importante dos trabalhos que se estão realizando em Bambuí é a que se refere à profilaxia da moléstia de Chagas pelo combate ao transmissor, o barbeiro, serviço que pela primeira vez é realizado de um modo sistemático e que promete resultados muito interessantes.
>
> O trabalho em Bambuí vem sendo feito visando o estabelecimento de uma técnica a molde da que foi criada para o combate aos mosquitos, com um estudo detido de cada método ensaiado na destruição dos insetos transmissores e estabelecimento de suas vantagens, desvantagens, falhas e suas causas. *Assim ao cabo de certo tempo, talvez não muito curto, tal e qual sucedeu com os mosquitos, será possível obter os meios definitivamente eficazes para a destruição completa dos barbeiros nas habitações.*
>
> ...o número de barbeiros mortos por meio dêstes expurgos orça por 19 600, sendo 5 557 adultos e 14 043 formas imaturas.
>
> A par dêstes trabalhos de combate aos barbeiros que infestam as habitações, outros estão sendo feitos com o objetivo de melhorar tanto quanto possível as cafuas, rebocando as paredes e consertando suas coberturas de modo que os triatomas não encontrem aí condições favoráveis de vida... Ao mesmo tempo... estão sendo estudadas e vão ser construídas... casinhas simples de um tipo razoável e de baixo custo, para a vida da gente do campo."...
>
> Também faz parte do trabalho profilático executado em Bambuí a educação do povo por meio de palestras simples, cartazes de propaganda, etc., a propósito dos perigos das picadas dos barbeiros e dos meios mais práticos de combater êsses insetos. Os trabalhos do Centro de Estudos e Profilaxia da Moléstia de Chagas em Bambuí encaram o assunto sob os seus vários aspectos e do seu desenvolvimento estão sendo obtidos resultados muito interessantes, originais e úteis à solução de um problema do maior interêsse para o País".

Um dos aspectos referidos, o do envio de doentes ao Rio de Janeiro para estudos mais aprimorados, é ilustrado pela figura 8, que mostra um grupo de doentes agudos e crônicos internados no Hospital Evandro Chagas, em janeiro de 1946. Os de números 8, 14, 17 e 23 são casos fatais, sendo o primeiro (A. S.) com infecção aguda e o último (J. C. O.) de cardiopatia crônica com bloqueio aurículo-ventricular total, ambos ali falecidos.

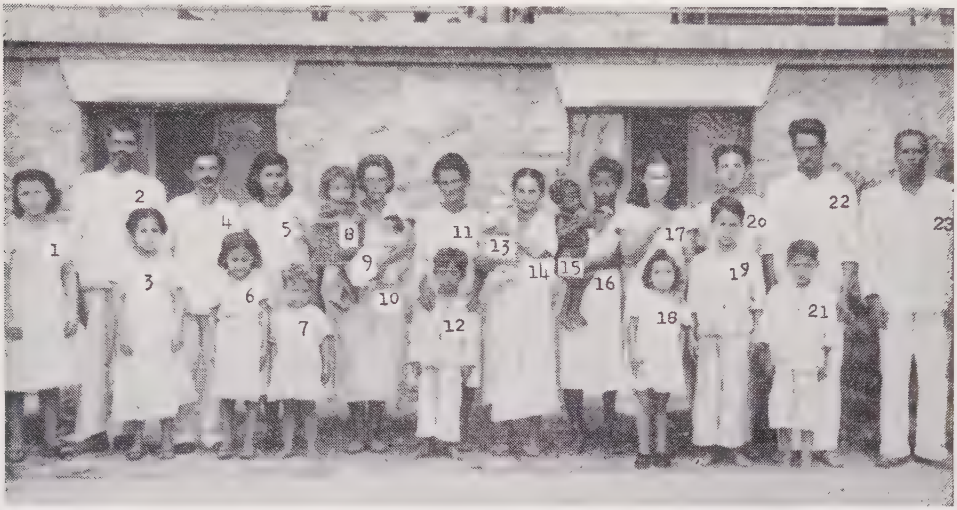


Fig. 7 — Casos agudos crônicos de doença de Chagas procedentes de Bambuí, internados no Hospital Evandro Chagas (janeiro de 1946).

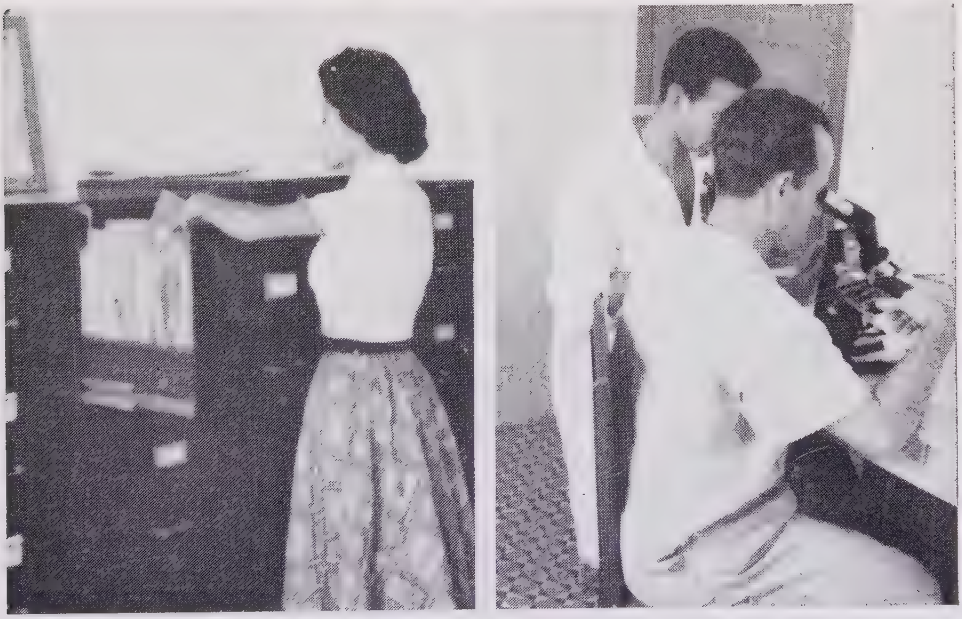


Fig. 8 — Arquivos de casuística e microscopia.

Mostrando-se sempre satisfeito com o andamento e o resultado dos trabalhos, que acompanhava zelosamente através de contacto epistolar ou pessoal, quando íamos ao Rio em objeto de serviço, não perdia o Professor Henrique Aragão nenhum ensejo para ministrar estímulo e orientação, mas procurando, sempre que possível, ampliar o plano das atividades.

Em julho de 1944, portanto já bem ultrapassado o prazo de três meses que, segundo antes dizia, talvez fôsse suficiente para o cumprimento da tarefa que nos cometera, instava pelo estudo de um problema ìntimamente ligado ao da esquizotripanose e que sempre o preocupara, o da habitação, e deixava ao mesmo tempo entrever que o trabalho se prolongaria (nunca chegou a dizer até quando). Assim, escrevia-nos o Dr. Aragão em 20 de julho:

> "Vejo que o número de casos agudos vai aumentando, dando assim uma maior importância aos trabalhos aí feitos. Espero que até o fim do ano possa estar completo o seu trabalho. Será isto possível?
>
> Convém pensar no tipo de casa à prova de barbeiro a aconselhar, sendo feita com tijolo ou adôbe e coberta de telhas com piso revestido de tijolo, no tamanho aproximado de uma cafua, mas com melhores condições higiênicas, inclusive poço e fossa. Estou certo de que será possível obter um tipo razoável e de preço accessível, podendo ser exigido pelas municipalidades e que os fazendeiros mais abastados possam construir para seus empregados".

Em seu Relatório do ano de 1945 volta o Diretor(4) a destacar os resultados dos trabalhos que mandara executar:

> "As investigações referentes à moléstia de Chagas tomaram notável amplitude no centro criado em Bambuí, tanto no que diz respeito à profilaxia dessa entidade mórbida como no que tange ao seu estudo clínico, especialmente na parte eletrocardiográfica. Êsses e outros trabalhos de investigação médica foram muito facilitados pela abundância de casos observados, pois que tendo sido registrados 84 em 1944, em 1945 atingiram a 170, perfazendo um total de 254 nesses dois anos.
>
> Ao tempo em que fôra instalado o centro de estudos e profilaxia de moléstia de Chagas, sabíamos que o local era apropriado ao trabalho a ser realizado, jamais imaginávamos entretanto que pudesse, em tão pouco tempo, fornecer o abundante material de casos humanos aí encontrado.[1]

---

[1] Em novembro de 1955 conta o Centro com 3 000 casos fichados, dos quais 500 ainda não confirmados pelo laboratório com o de doença de Chagas mas possuindo traçados eletrocardiográficos em grande parte sugestivos da doença crônica.

> Graças à instalação dêsse pôsto, Manguinhos possui hoje um campo de trabalho amplo para as mais variadas investigações pertinentes à moléstia de Chagas, que além da contribuição já trazida ao seu conhecimento ainda promete muitas observações originais."

Fixado uma vez determinado objetivo, não mais o perdia de vista, voltando sempre ao mesmo com persistência digna de admiração, com o que atiçava nos seus subordinados o desejo de vê-lo atingido o mais prontamente possível, pois sabiam êles que, fôssem ou não alcançados os fins apontados, seu esfôrço não deixaria de ser justamente apreciado, e dêle teria que ser dada conta:

> "Aí vai a fotografia da casa rural construída no Espírito Santo, de que lhe falei. Acho a cobertura interessante. Estou à espera da planta da mesma para lhe enviar," escrevia-nos em 29 de setembro de 1944.

Ao ser iniciado em 1947, com a colaboração de F. LARANJA e J. PELLEGRINO (médico do Departamento Estadual de Saúde, requisitado pelo Dr. ARAGÃO para servir em Bambuí) um inquérito clínico-epidemiológico sôbre doença de Chagas, mais tarde considerado modelar por ROMAÑA & KIRSCHBAUM, num trecho da Rêde Mineira de Viação compreendido entre Iguatama e Campos Altos (56, 57, 71), em combinação com o Diretor da ferrovia e com facilidades por êle proporcionadas, procurou-se dar maior impulso à questão das habitações, escrevendo-nos então o Prof. ARAGÃO (3 de março, 1947):

> "Recebi sua carta de fevereiro, assim como a cópia da carta que dirigiu ao Dr. MAURO BROCHADO, ilustre Diretor da Rêde Mineira de Viação. Se êste concordar com o plano de reforma das construções existentes para as turmas ou com a feitura de casas novas, acho que será ótimo, pela utilidade do serviço e pelo exemplo digno de ser seguido. A vantagem de um inquérito preliminar é indiscutível pelas informações que trará sôbre as condições das habitações e a sua infestação pelos barbeiros."

Os resultados dêsse inquérito, bastante expressivos, antes de serem publicados foram comunicados ao então diretor da Rêde Mineira de Viação, Dr. TEMÍSTOCLES BARCELOS. Vale a pena resumi-los brevemente e divulgar pontos de vista trocados entre êste ilustre Diretor e o Instituto Oswaldo Cruz, para conhecimento dos atuais dirigentes destas instituições e também da Fundação da Casa Popular, tendo em mira a possibilidade, altamente desejável, de se reavivar o interêsse pelo importante assunto médico-social.

O estudo foi feito ao longo da linha férrea entre as referidas Estações, numa extensão de aproximadamente 130 quilômetros, onde havia 16 "turmas" de conserva da ferrovia compostas por 93 habitações para os trabalhadores e suas famílias, que somavam 334 pessoas de mais de

5 anos de idade. Nada menos que 71% dessas habitações eram constituídas por cafuas de pau-a-pique. Adequada busca de barbeiros em tôdas elas proporcionou a captura de 976 exemplares em 27 cafuas e de apenas 3 em uma das casas de tijolo. O índice de infecção dos triatomíneos por formas evolutivas do *Schizotrypanum cruzi* foi de 20%. Dentre 312 soros examinados, provenientes de indivíduos maiores de 5 anos, a reação de fixação do complemento para doença de Chagas foi positiva em 122, ou 39,1%. A incidência de alterações eletrocardiográficas significativas de lesão miocárdica foi de 32,6% em 104 indivíduos com reação positiva e de apenas 3,4% em 176 indivíduos com reação negativa. Assim, tal como expusemos ao Dr. TEMÍSTOCLES BARCELOS: "Demonstra, portanto, êste inquérito, não sòmente a elevada incidência da doença de Chagas em pessoas residentes na região estudada, como também ser esta infecção o fator etiológico de cardiopatias mais importante, conforme, aliás, já o haviam demonstrado trabalhos anteriores do Instituto Oswaldo Cruz em Minas Gerais. Releva ainda assinalar que 7 dos casos de doença de Chagas apresentavam sinais de insuficiência cardíaca, 4 dos quais já faleceram." No trabalho 71, publicado em 1951, eram já 7 os casos fatais, dos quais 4 tiveram morte súbita e 3 faleceram em insuficiência cardíaca.

Impressionando-nos naturalmente com aquêles resultados, respondeu-nos em 24 de janeiro de 1949 o Dr. TEMÍSTOCLES BARCELOS:

> "Tenho a satisfação de vos agradecer o relatório contendo o resumo dos resultados do inquérito que o Centro de Estudos e Profilaxia de Moléstia de Chagas de Bambuí vem realizando naquela cidade mineira e também no trecho da Rêde Mineira de Viação, entre Iguatema e Campos Altos.
>
> O serviço inestimável... prestado à Estrada e ao Estado... não pode deixar de ser acentuado aqui por mim.
>
> Sabemos agora, com amargura, que a situação deficitária e de dificuldades por que vem passando a Rêde, já há tão longos anos, não lhe tendo permitido resolver o problema de habitações para seus trabalhadores de Turma naquele trecho, deu em resultado um clamoroso crime social, qual seja o de ter contribuído para a disseminação de tão grave doença.
>
> Quantas vêzes os seus administradores, ao nomear um trabalhador para aquêle trecho, condenavam-no e aos seus à morte prematura e, o que é pior, a uma vida de sofrimentos com tôdas as angústias do cardíaco. Pensavam levar o pão e a vida a um lar, quando, na verdade, estavam levando a dôr e a morte.
>
> Vossos preciosos dados técnicos e estatísticos, conseguidos com a proverbial honestidade e proficiência que sempre presidiu e preside a tudo quanto parta dêsse notável Instituto Oswaldo Cruz, representam um agudo sinal de alarme a ferir a consciência de todos nós, que o destino atirou em postos de administração pública. É imprescindível e urgente que atendamos a êle, procurando resolver êsse grande problema humano, no setor que nos compete.

> Tenho, pois, a satisfação de vir agradecer, por vosso intermédio, ao Dr. Henrique Aragão, tão grande serviço prestado a Minas, afirmando-vos que irei, já êste ano, solicitar aprovação do Govêrno Federal para a execução de algumas casas para ferroviários que trabalham naquela zona, à conta de parte da quota federal para reaparelhamento da Estrada.
>
> Dada, entretanto, a situação financeira difícil que atravessamos, ouso pedir vossa interferência junto ao Dr. Henrique Aragão no sentido de nos ajudar junto à administração da Fundação da Casa Popular.
>
> Se esta está disposta a contribuir para a solução do problema e se, na zona estudada, a miséria é tão grande, que os operários não podem arcar com a responsabilidade da aquisição de habitações, peço licença para sugerir o seguinte:
>
> 1.º — Um entendimento com a Fundação da Casa Popular para que seja permitido à Rêde adquirir as casas, assumindo o compromisso de seu pagamento e conservação;
>
> 2.º — Estas seriam utilizadas única e exclusivamente por trabalhadores braçais da Estrada, em conformidade com seu Regulamento, atendendo, assim, à finalidade da Instituição;
>
> 3.º — O próprio Instituto Oswaldo Cruz determinaria os locais onde devessem ser construídas, tendo em vista as necessidades de serviço e os índices de infecção."

Na mesma ocasião o digno Diretor da Rêde Mineira de Viação, ao exprimir ao Professor Henrique Aragão seu reconhecimento pelos trabalhos realizados pelo Centro, refere-se à possibilidade da utilização de um saldo de verba destinada pela Fundação da Casa Popular a construções rurais em Bambuí, afirmando que, "Nessa hipótese, a Rêde assumiria o compromisso do pagamento à Fundação da Casa Popular, pela forma normalmente estabelecida por ela. Estaria, assim, esta instituição perfeitamente garantida, quanto aos pagamentos; a Rêde servida, porque só seriam as habitações utilizadas realmente por trabalhadores seus e o Instituto que Vossa Excia. tão bem dirige, dando à verba uma aplicação de alto alcance social e exatamente de acôrdo com o espírito que presidiu o inquérito da endemia na zona, sob a elevada orientação de Vossa Excia.".

Como louvável conseqüência de gestões feitas em 1947 pelo Prof. Henrique Aragão ao então Superintendente da Fundação da Casa Popular, Dr. Armando Godoy, uma verba de um milhão de cruzeiros fôra por ela destinada para a construção de casas baratas e higiênicas em Bambuí (v. "Estado de Minas" de 5 de agôsto de 1947), que mediante certas condições viriam a ser ocupadas pelos moradores de cafuas situadas na cidade e que consentissem na destruição destas. Após minucioso estudo do assunto pelo engenheiro-arquiteto Sérgio Nacinovic, que elaborou importante relatório sôbre a questão, foram construídas as casas geminadas que se vêem à figura 11, porém, infelizmente, devido sobretudo ao baixíssimo nível econômico-social das famílias que viriam a be-

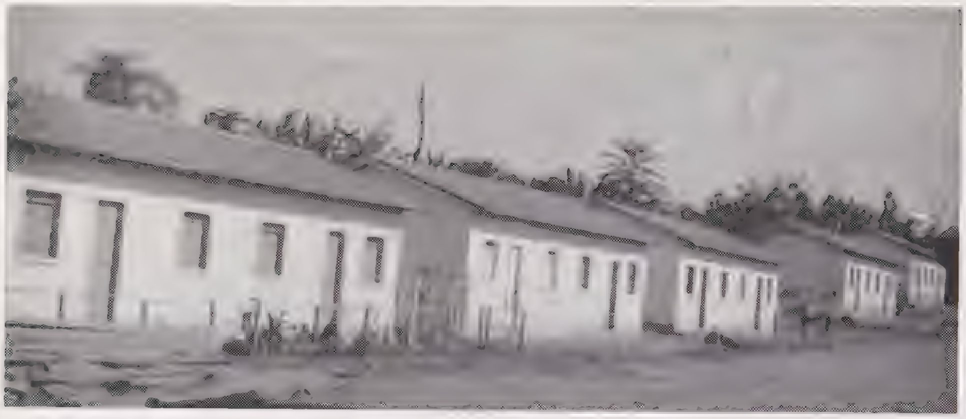


Fig. 9 — Habitações construídas pela Fundação da Casa Popular em Bambuí

Fig. 10 — Exemplo de cafua e seus moradores.

neficiar-se do projeto, teve êste que ser abandonado. O fato de não haver sido utilizada senão uma fração dessa verba — aliás sempre manipulada pela F.C.P. e nunca posta à disposição do Instituto — foi que deu origem à humanitária e aparentemente tão realizável sugestão do Dr. T. Barcelos.

Ao que saibamos, o assunto parou neste pé, sendo, entretanto, de máximo interêsse sua reconsideração pelas autoridades competentes. Para aquêles que conhecem bem a situação do interior, é inútil insistir sôbre sua importância; aos pouco familiarizados com a miséria e a inferioridade prevalentes em certas zonas rurais, a figura 12 dá uma idéia, e não das piores, do que elas representam. Por experiência própia sabemos que a questão difìcilmente comporta uma solução ampla, e disto ainda nos advertiu o Professor Aragão em carta de 17 de setembro de 1948: "O mínimo de aluguel vai ser de Cr$ 75,00, isto sem lucro para a Fundação. Como você vê é mais fácil solucionar o problema teòricamente do que na prática. Quem vive em cafua nada pagando ou muito pouco, não compreende a vantagem de uma casa confortável mas de aluguel maior, embora podendo suportá-lo dentro de suas posses ou com um pouco mais de trabalho e esfôrço."

Não obstante não haverem sido atendidas as sugestões contidas num ofício que dirigimos em 24 de maio de 1950 ao Dr. Cid Rache, Superintendente da Fundação da Casa Popular, acreditamos que valha a pena reproduzi-las aqui:

"...considerando o assunto como estritamente de ordem experimental, seria de alto alcance e interêsse que a Fundação se decidisse a levar avante estudos nesse sentido, com o objetivo final de estabelecer um tipo de habitação rural que se pudesse considerar como mínimo satisfatório, do ponto de vista econômico como do sanitário. Permito-me, pois, indagar se não seria conveniente, como a mim o parece, mandar a Fundação construir em Bambuí algumas unidades de diversos tipos, tendo em vista, além do interêsse amplo da questão, o que diz respeito particularmente à profilaxia da moléstia de Chagas, e sugerir que, entre outras, seja construída uma casa segundo técnica e especificações preconizadas por Ângelo A. Murgel em seu importante trabalho "A casa rural brasileira" (Revista do Serviço Público, volume 3, n.º 3, setembro de 1949)".

As pesquisas sôbre a ação de inseticidas contra os triatomas foram também seguidas com a maior atenção pelo nosso Diretor e dêle mereceram sempre apreciações e sugestões valiosas, como acontecia, aliás, a propósito de qualquer assunto que era levado ao seu conhecimento.

Por nosso relatório de serviço de setembro de 1944, foi o Prof. Henrique Aragão informado sôbre os primeiros resultados positivos verificados pela aspersão de pós de pirêtro nas grêtas das cafuas, mais tarde largamente empregados como triatomífugo:

> "*Pó Fly-Tox* — Êste produto comercial... mostrou possuir uma enérgica ação contra os barbeiros... Às primeiras baforadas nas cafuas infestadas, com o aspersor de Cianogaz, começam a sair das paredes triatomas e baratas."

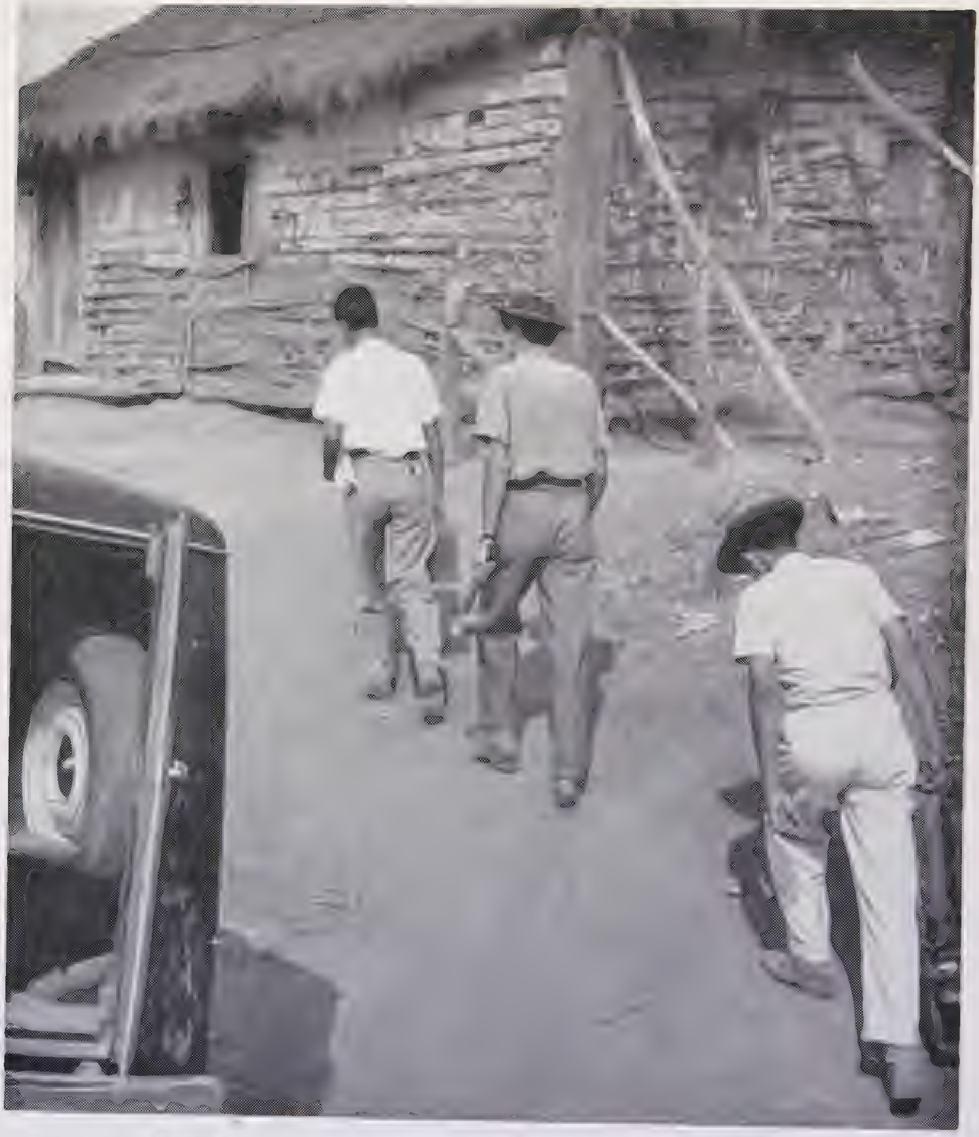


Fig. 11 — O começo da luta contra os barbeiros, em Bambuí.

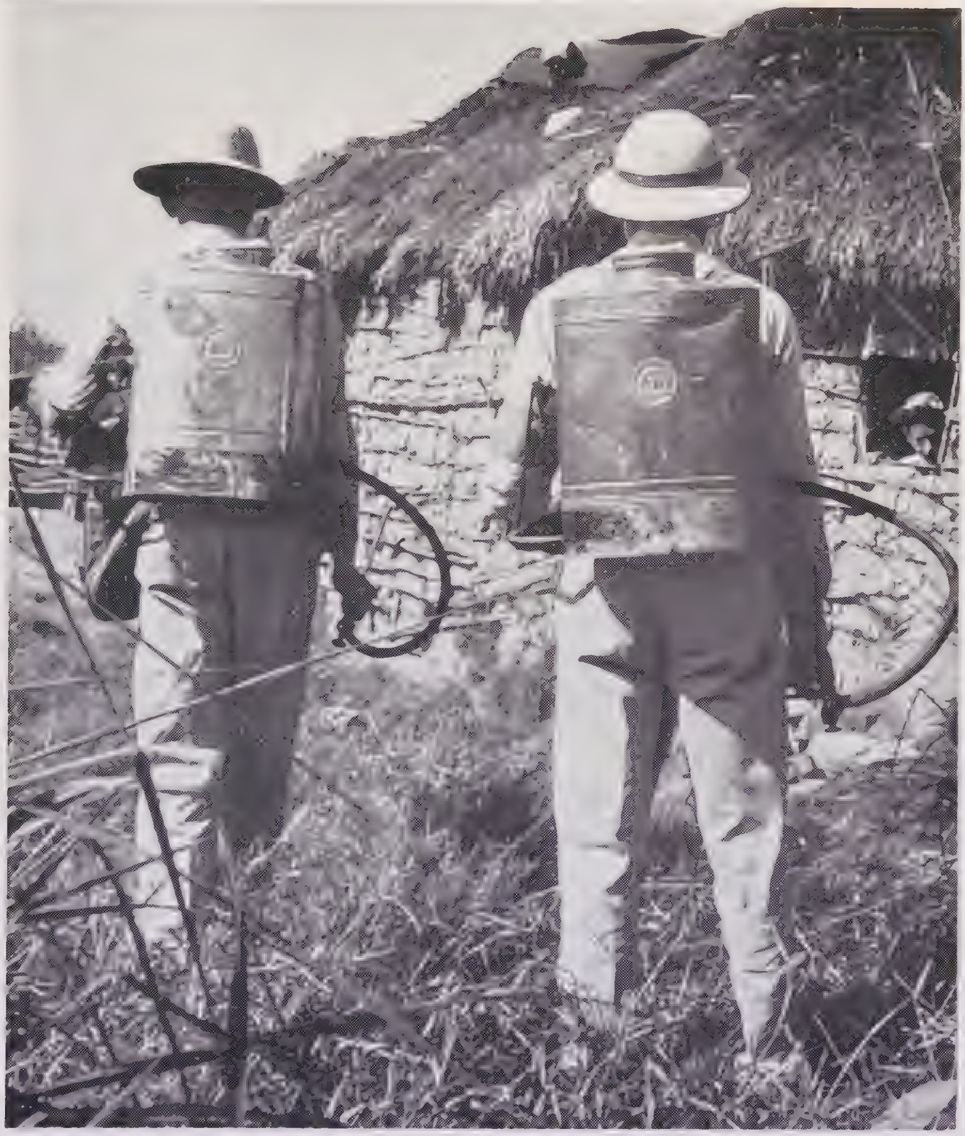


Fig. 12 — Sem o advento dos inseticidas de ação residual, a luta em grande escala contra os transmissores da doença de Chagas seria impossível. Foto do Serviço Nacional de Malária.

Simultâneamente foram comunicados os resultados precários ou negativos observados nos primeiros ensaios feitos com DDT:

> "No muro do quintal do Centro, feito de barro, foi adaptada uma caixa de madeira com 1 metro de lado, sem fundo, fechável por meio de filó e tela de arame. A parte cercada foi aspergida com quantidade de uma suspensão aquosa de Gesarol M 10 correspondente a 1,0 gr de DDT. Horas depois, 100 ninfas de *T. infestans,* perfeitas e recentemente nutridas, foram introduzidas na caixa e fechadas... Os insetos mortos são recolhidos cada dia. Resultados até agora observados:
>
> | N.º de dias | Barbeiros mortos |
> |---|---|
> | 3 | 11 |
> | 4 | 2 |
> | 7 | 5 |
> | 10 | 2 |
> | 11 | 2 |
> | 12 | 2 |
>
> Assim, após 12 dias ainda sobrevivem mais de 3/4 dos insetos, cuja observação continuará. Vejam-se as fotografias dos dispositivos empregados.
>
> O produto não tem ação ovicida. Ovos deixados em contacto com o pó concentrado (40% de DDT) vêm a eclodir, quer sejam recentes, quer já estejam próximos à eclosão.
>
> *Ação por ingestão* — A um frango foram dados por via gástrica 400 miligramos de DDT e larvas de barbeiro foram postas para sugar de 2 a 4 horas depois, a diferentes intervalos. Os insetos, observados durante 26 dias, não apresentaram sinais de intoxicação e apenas 3 morreram."

Relatamos, ainda, uma experiência feita com DDT em 5 cafuas do Arraial Novo, em que nenhum barbeiro apareceu afetado ou morto num período de observação de 30 dias e nas quais, ao cabo dêste prazo, a aplicação do pó de pirêtro proporcionou a captura de 139 triatomas. Foram êstes os primeiros "expurgos de prova" feitos. "Como o Gesarol não tem ação repelente... torna-se muito interessante a associação de ambos", lembramos.

Nosso Diretor, sabendo dar valor a quaisquer trabalhos desde que proporcionassem ensinamentos, aconselhou-nos em outubro de 1945, ao ser pôsto ao corrente de novos ensaios com o revolucionário inseticida que acabava de surgir e no qual depositávamos tantas esperanças:

"Vale a pena publicar resultados DDT, pois embora negativos merecem divulgação e talvez despertem o interêsse de especialistas em inseticidas para o assunto."

Entretanto, dentre os múltiplos exemplos que poderíamos citar para demonstrar o empenho e acêrto com que o Professor Henrique Aragão supervisionava as pesquisas, tomando iniciativas básicas para seu desenvolvimento, talvez o mais expressivo esteja contido neste breve trecho de sua já citada missiva de 3 de março de 1947:

"Qual o resultado da ação do DDT puro, que lhe enviei, sôbre os barbeiros? Vou lhe enviar... uma lata de inseticida para gafanhotos que me foi dada pela Imperial Chemical, o qual contém gamexane, que afirmam ser mais ativo que o DDT."

Figura 13 — Demonstrando especial interêsse pelas investigações relativas às possibilidades de luta contra os planorbídeos por meio de agentes microbianos, o Professor Henrique Aragão foi diversas vêzes observar os resultados de ensaios realizados em Jacarepaguá, Distrito Federal (agôsto de 1953).

É realmente admirável como, apesar de ocupado com a direção geral do Instituto, tão complexa e difícil, podia o Dr. Aragão estar atento a tudo quanto se passava, nos mínimos detalhes, e mostrar-se sempre pronto a ajudar e esclarecer. É que se dedicava integralmente à tarefa, devotando-lhe tôda sua energia e capacidade. Por nossa própria experiência no prolongado trato com o grande Diretor, compenetrámo-nos de que agia como que inspirado no lema de *orientar, estimular e facilitar* o trabalho.

Estávamos numa época de transição. Havíamos deixado as precárias misturas líquidas, abundantemente lançadas nos buracos das paredes, pelos expurgos mais eficazes com piretrinas. Carecíamos de "uma mistura inseticida que alie à sua ação tóxica imediata uma ação tóxica residual, tanto quanto possível prolongada no tempo", pois era fácil prever que "Um agente desinfestante que reúna estas propriedades constituirá uma arma tremenda contra o barbeiro e simplificará enormemente o saneamento das vastíssimas regiões assoladas pela endemia esquizotripanósica" (13, p. 78).

Dentro em breve experiências no laboratório e em cafuas (60) mostraram que, pela primeira vez, se tinha em mãos uma boa arma contra os triatomas, cujo valor teria que ser pôsto à prova.

Em setembro de 1949, já bem evidenciada a gravidade da situação em relação à doença de Chagas e entrevistas as possibilidades de êxito no combate aos seus transmissores domiciliários, focalizamos o assunto em congresso médico realizado na cidade de Araxá (23), em conferência assim concluída:

> "Senhores congressistas, terminamos pedindo que aproveis a resolução, que propomos, de que envie o 1.º Congresso Médico do Brasil Central e 3.º do Triângulo Mineiro uma moção ao Ministro da Educação e Saúde, chamando sua atenção para êste grave problema brasileiro. Que nela seja solicitado dirija-se Sua Excelência ao Diretor do Departamento Nacional de Saúde e ao Diretor do Serviço Nacional de Malária, bem como a tôdas as autoridades que julgue necessário ou conveniente, recomendando-lhes providências para que sejam lançadas as bases efetivas de uma campanha redentora, que poderá ser longa e penosa, mas que devemos reclamar em nome de milhares e milhares de humildes compatriotas nossos."

Logo após o certame, recebia o Ministro CLEMENTE MARIANI, entre outras moções unânimemente aprovadas, a que foi solicitada nos seguintes têrmos pelo sucessor de HENRIQUE ARAGÃO na direção do Instituto:

> "Propomos que o 1.º Congresso Médico do Brasil Central e 3.º do Triângulo Mineiro se dirija ao Sr. Ministro da Educação e Saúde, manifestando o seu apoio às conclusões do trabalho do Dr. EMANUEL DIAS, indicando a necessidade de organizar a profilaxia da doença de Chagas, baseada no combate aos transmissores pelo uso de inseticidas e pela melhoria da construção das habitações rurais."
>
> Sala das Sessões, 7 de setembro de 1949.
> (a) OLYMPIO RIBEIRO DA FONSECA FILHO.

É bem verdade que, antes disto, já havia HENRIQUE ARAGÃO, em colaboração com MÁRIO PINOTTI, planejado a realização de estudos conjuntos, com a finalidade de averiguar as possibilidades de uma campanha anti-triatoma.

Fig. 14 — Embora carecendo grandemente de colaboradores especialzados, conta entretanto o Centro com dedicada equipe de auxiliares, recrutados quase todos entre os elementos locais. Repetindo HENRIQUE ARAGÃO (5a), dêles podemos dizer: "Alguns dêsses auxiliares, cuja instrução em geral é de nível pouco elevado, adquirem com o correr do tempo apurados dotes de observação e capacidades técnicas que, não fôra a falta de uma cultura básica, os nivelariam a verdadeiros biologistas".

Em conseqüência a portaria ministerial lavrada em seguida, foi iniciado em outubro de 1949, em Uberaba, o período decisivo dos trabalhos experimentais em ampla escala, mais tarde assim relatados (64):

> "O Dr. HENRIQUE ARAGÃO, Diretor do Instituto Oswaldo Cruz e o Dr. MÁRIO PINOTTI, Diretor do Serviço Nacional de Malária, estabeleceram um acôrdo para que fôssem realizadas, por técnicos dessas instituições, experiências em larga escala de combate aos triatomas por meio de inseticidas, em continuação e ampliação das pesquisas que, desde 1943, vinha nesse sentido executando aquêle Instituto em Bambuí (Minas Gerais) pelo seu Centro de Estudos e Profilaxia de Moléstia de Chagas.
>
> Dando cumprimento a êsse acôrdo, em boa hora decidido por aquêles eminentes cientistas, foi escolhido o município de Uberaba para a realização dos trabalhos iniciais, que foram

inaugurados em outubro de 1949, estando já o Instituto Oswaldo Cruz sob a direção do Dr. OLYMPIO DA FONSECA FILHO.

Técnicos e guardas do Centro de Bambuí trasladaram-se para a referida cidade, onde foram traçados os planos que, nos mêses que se seguiram, foram executados em perfeita colaboração com o Serviço Nacional de Malária."

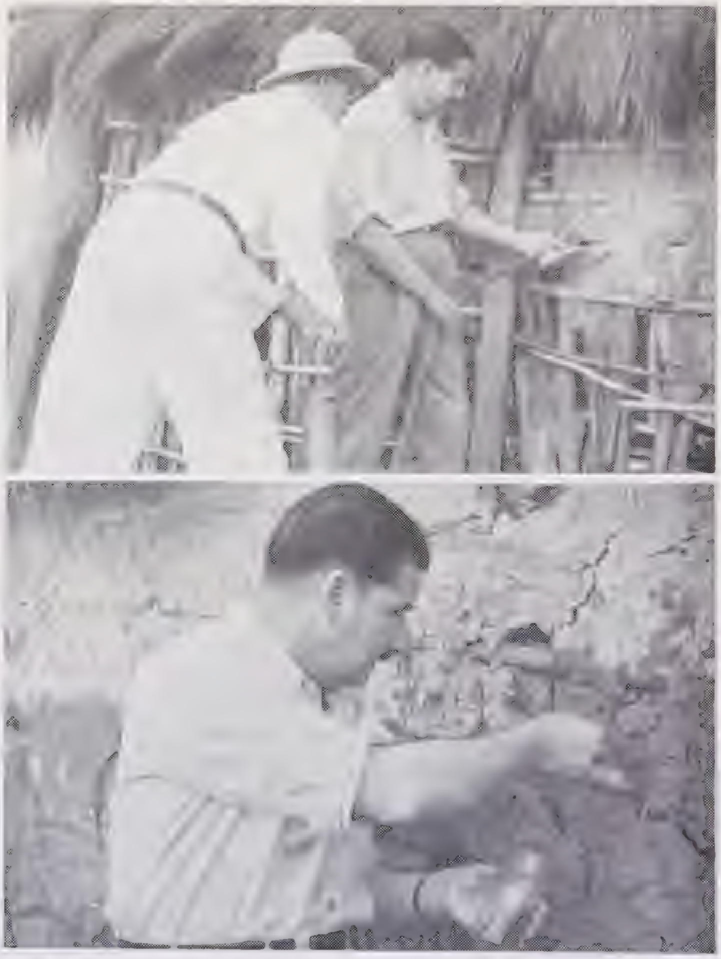


Fig. 15 — O médico-sanitarista e deputado mineiro, Dr. THEOPHILO PIRES, que sempre se interessou pela solução dos problemas médicos e sociais de sua terra, procedendo a farta captura de Triatoma *infestans* em cafuas do Alto do Pasto do Antero.

Foi tamanha a mortandade de barbeiros ocasionada pelos expurgos das cafuas das localidades trabalhadas, especialmente nas de Água Comprida, que já em fins de novembro do mesmo ano, ao dar conta dêsses resultados ao Prefeito Boulanger Pucci, foi-nos possível manifestar a opinião de que

> "Considero que já dispomos de recursos técnicos eficazes e praticáveis na luta contra os barbeiros, o que justifica seja pleiteada, desde agora, sua aplicação em maior escala, sem prejuízo da continuação dos trabalhos de ordem estrictamente experimental. Os resultados acima bem dizem do êxito dos métodos empregados, pois as capturas foram feitas após um único expurgo em cada casa. Será altamente desejável, sob todos os pontos de vista, que se consiga no ano próximo estender a uma grande área, como por exemplo a todo o Triângulo Mineiro, o combate aos transmissores de uma endemia tão séria e difundida como a doença de Chagas."

Cabe aqui consignar o interêsse com que o vereador e médico-sanitarista Cláudio Moreira de Almeida acompanhou êsses trabalhos, indo a miúdo verificar a devastação dos triatomas ocasionada nas habitações pela borrifação de inseticidas, o que o levou a fazer freqüentes e otimistas comunicações à Câmara Municipal de Uberaba, à qual tornou a se dirigir em 28 de novembro de 1949, em alocução assim concluída:

> "É assim, Senhor Presidente, que tomo a iniciativa de fazer a seguinte sugestão, com o objetivo de procurarmos conseguir a tão necessária ampliação dos trabalhos de profilaxia da moléstia de Chagas a todo o Triângulo Mineiro. A sugestão é a de que o nosso Legislativo se dirija, em caráter de urgência, ao Dr. Miguel Couto Filho, ilustre Presidente da Comissão de Saúde da Câmara Federal, encarecendo a importância do referido assunto e pedindo que tome as providências que lhe pareçam necessárias para que tal campanha possa ser efetuada no ano próximo."

Apenas cientificado, por relatório elaborado pelos técnicos encarregados das pesquisas, da conclusão básica a que estas haviam conduzido, a de que *"Já se dispõe de técnicas de comprovada eficácia para a luta contra os transmissores da doença de Chagas"*, decidiu-se o eminente sanitarista Mário Pinotti a dar início à maior campanha jamais deflagrada contra tais insetos, que foi inaugurada em Uberaba, com a presença do Ministro Clemente Mariani e outras altas autoridades, no histórico dia 7 de maio de 1950.

Referindo-se às pesquisas feitas em colaboração o ilustre Diretor do Serviço Nacional de Malária, Dr. MÁRIO PINOTTI, assim se exprimiu no número de julho de 1950 de "Ciência Médica":

> "Alguns dados estatísticos da mortalidade dos insetos, nos primeiros dias posteriores ao expurgo inicial, são bastante expressivos... Os dados globais são significativos — morreram nos quinze focos mais ou menos 50 000 triatomas e 4 972 foram colhidos em expurgos e capturas isoladas. Os trabalhos... não se resumiram apenas à área do município de Uberaba. Estenderam-se a Bambuí e à Cidade Industrial, bairro proletário de Belo Horizonte, onde se confirmaram as excelências das técnicas empregadas postas em prática nos domicílios uberabenses:

	Barbeiros mortos
Uberaba	55 065
Município de Bambuí	9 209
Cidade Industrial	6 118
	70 392"

Êste foi apenas o comêço. Nos anos próximos a campanha realizada pelo Serviço Nacional de Malária contra os vectores da esquizotripanose foi se estendendo por vários Estados da União. Até 1954 a situação dos serviços de expurgos domiciliários era a seguinte, de acôrdo com dados gentilmente fornecidos pelo Dr. FERNANDO B. BUSTAMANTE, Diretor interino do S.N.M.:

ANO	Municípios expurgados	Localidades expurgados	Casas expurgados	MUNICÍPIOS EXPURGADOS	
				Area Km2	População (censo 1950)
1950	60	3 476	52 885	97 790	1 095 296
1951	81	3 318	76 973	157 775	1 420 640
1952	74	3 002	111 237	91 093	1 920 100
1953	73	6 362	107 766	178 041	2 102 999
1954	149	9 919	221 173	1 611 073	1 748 731

Nos trabalhos de levantamento de triatomíneos domicliários, até o ano de 1954, foram investigados pelo S.N.M. 35 938 localidades, das quais foram positivas 19 858, nelas tendo sido capturados 254 209 barbeiros; o índice de infecção das ninfas e adultos pelo *S. cruzi* foi de 24,07%.

Também digna de ser acentuada, para que encaremos o futuro com mais fundamentado otimismo, é a intensa atividade que vem sendo exer-

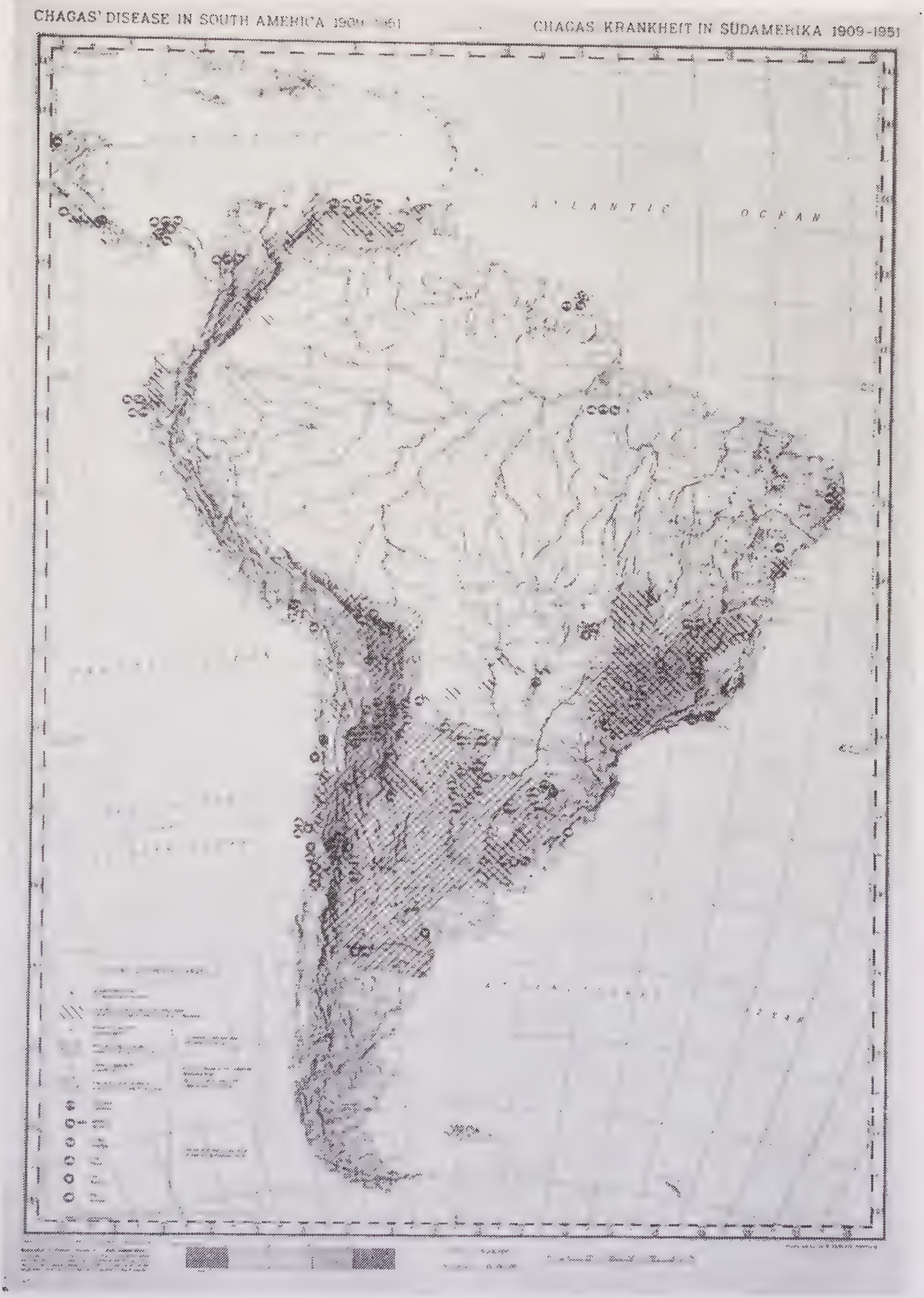

CHAGAS' DISEASE IN SOUTH AMERICA 1909-1951
CHAGAS KRANKHEIT IN SÜDAMERIKA 1909-1951
ATLANTIC OCEAN

Fig. 16 — Panorama da moléstia de Chagas na América do Sul. Seg. E. Dias, 1954, *in* Welt Seuchen Atlas, Falk Verlag, Hamburgo. Mapa exposto no Palais de la Découverte e reproduzido por A. Buttner, 1955 (9).

cida pelo Serviço de Profilaxia da Malária, de São Paulo, nessa grande unidade da Federação, com respeito ao estudo e combate a uma doença que, por sua alta incidência e vasta difusão (fig. 16) e pela freqüência alarme com que lesa, em nosso meio, o coração de suas vítimas, vai dia a dia assumindo maior importância no campo da medicina e do sanitarismo. É certo, diga-se de passagem, que em alguns anos muito evoluiu a antiga "doença de Lassance", graças, sobretudo, às pesquisas cardiológicas efetuadas pelo Instituto Oswaldo Cruz em Minas Gerais, como bem se depreende do notável trabalho de **Francisco Laranja**, "Evolução dos conhecimentos sôbre a cardiopatia da doença de Chagas — Revisão crítica da literatura" (69).

Vastas zonas do território nacional já foram, portanto, beneficiadas pelos primeiros passos na luta contra os nefastos vectores da esquizotripanose, que se iniciou em Bambuí antes mesmo do advento dos poderosos inseticidas que hoje a tornam perfeitamente exeqüível, luta essa em que se deve preservar, ininterruptamente, até a vitória final.

Para o Professor **Henrique Aragão**, o Diretor de Manguinhos a quem coube ordenar, há doze anos, o começo de uma batalha que se afigurava impossível, deverá ser motivo de justa satisfação contemplar as perspectivas atuais da situação, que ainda mais promissoras se tornam através a palavra confiante de um médico ilustre, candidato, hoje eleito, à Presidência da República:

> "A luta contra a doença de Chagas, a proteção da saúde e da vida de milhões de brasileiros, pode ser trabalhosa, mas é perfeitamente realizável. Basta continuar aplicando inseticidas nas habitações sertanejas, para exterminar os insetos transmissores. Os hábitos exclusivamente domiciliares do inseto transmissor facilitam essa tarefa, aliás auspiciosamente iniciada há dois ou três anos pelo Instituto Oswaldo Cruz e o Serviço Nacional de Malária" (**Juscelino Kubitschek**, 68).

MANIFESTAÇÕES DE APLAUSO

Gratas haveriam de ser, por certo, àquele que com tanto zêlo e calor guiava os destinos da casa de **Oswaldo Cruz**, as manifestações de aplauso que não poucas vêzes ali chegaram e que vinham atestar, a um tempo, o alcance de suas iniciativas e o reconhecimento pelos benefícios que delas resultaram para a ciência e a coletividade.

A primeira delas é de autoria do saudoso Professor A. **Penna de Azevedo**, Chefe da Seção de Patologia do Instituto de Manguinhos, que assim se dirigiu ao Professor **Henrique Aragão** em telegrama datado de 15 de maio de 1945:

> "Minha estadia em Bambuí causou viva impressão ao verificar atividade científica humanitária... confirmando feliz orientação Diretoria Instituto procurando resolver problema suma importância nossos patrícios."

Em outubro do mesmo ano os Doutores WALDEMAR VERSIANI e AMILCAR VIANA MARTINS, técnicos do Instituto Ezequiel Dias, manifestaram ao Professor ARAGÃO que "Tendo estado em visita ao Centro de Estudos Profilaxia Moléstia Chagas Bambuí, apresentamos-lhe nossas calorosas felicitações pelo notável trabalho que aqui está sendo realizado por sua iniciativa..."

Em agôsto de 1946, enviou a Sociedade Brasileira de Cardiologia a seguinte

Moção ao Instituto Oswaldo Cruz

"A Sociedade Brasileira de Cardiologia, em sua 3.ª Reunião Anual, realizada em Belo Horizonte de 25 a 30 de julho de 1946, com a presença de médicos cardiologistas de vários Estados da União:

Considerando que a doença de Chagas constitui um dos temas oficiais da referida Reunião;

Considerando que pela palavra dos relatores do tema, Doutores EMMNUEL DIAS e FRANCISCO LARANJA, e pela de outros médicos que apresentaram trabalhos originais, ficou perfeitamente demonstrado que a esquizotripanose é uma tremenda endemia existente na maior parte do território nacional, ocasionando uma cardiopatia gravíssima e incurável;

Considerando que o Instituto Oswaldo Cruz, sob a sábia direção do Professor HENRIQUE ARAGÃO, tem proporcionado notável incremento nas pesquisas relativas a essa infecção;

Considerando que o Instituto foi o primeiro a organizar um Centro de Estudos no interior, para investigações sôbre a profilaxia do mal;

Resolveu, por decisão unânime consignada em Ata, enviar a presente Moção de Aplauso ao Instituto Oswaldo Cruz pelos importantes trabalhos que vem realizando sôbre a doença de Chagas e pelas iniciativas de grande alcance que tem tomado no combate à moléstia e dirigir-lhe um apêlo, no sentido de que continui auxiliando e incrementando, em escala cada vez maior, os médicos e cardiologistas que, nas cidades como no interior do País, se interessam pela pesquisa dêste momentoso assunto.

Pela Sociedade Brasileira de Cardiologia,

E. MAGALHÃES GOMES, Presidente
R. MENEZES DE OLIVEIRA, Secretário".

Uma Missão Universitária Venezuelana, integrada pelo ilustre Professor FELIX PIFANO C., catedrático de Medicina Tropical da Universidade Central de Caracas e seus assistentes, Doutores BENAIM PINTO e RAFAEL MEDINA, endereçou ao Professor ARAGÃO, em 1.º de setembro de 1947, o seguinte telegrama: "Agradecemos-lhe infinitamente a oportunidade de apreciar notáveis trabalhos de campo... que são modelos em seu gênero e que honram o Instituto que vós dirigís."

Os eminentes membros da Missão, que são grandemente experimentados em questões relativas à doença de Chagas, a cujo respeito produziram contribuições de alto valor em seu país, elaboraram ainda um parecer, cujo seguinte trêcho temos a satisfação de transcrever:

"Después de un estudio detenido de los hechos observados en dicha Estación Rural, estamos en condiciones de informar que los trabajos de Bambuí representan una de las contribuciones de mayor transcendencia que hayan podido realizarse en nuestro Continente para el conocimiento de la Dolencia de Chagas. En tal sentido y considerando que tales esfuerzos deben ser reconocidos por que ellos representan una nueva etapa para el estudio de la Schizotrypanosis americana por cuanto aportan nuevas orientaciones epidemiológicas, clínicas y profiláticas, estimamos que será de gran beneficio que los países que confrontan el problema de la Enfermedad de Chagas envien Misiones de Estudios para apreciar la importancia de los trabajos que alli se realizan y aprovechar la experiencia que de ellos deriva para utilizarla en los respectivos territorios pátrios.

FELIX PIFANO C.
BENAIM PINTO
RAFAEL MEDINA".

Em 7 de setembro de 1949 o 1.º Congresso Médico do Brasil Central e 3.º do Triângulo Mineiro, reunido em Araxá, Minas Gerais, deliberou por unanimidade enviar a seguinte:

Moção de reconhecimento ao Instituto Oswaldo Cruz pelas contribuições do Pôsto de Bambuí ao estudo da Doença de Chagas

"Considerando a influência decisiva que têm tido as contribuições feitas pelos investigadores do Pôsto do Instituto Oswaldo Cruz em Bambuí no desenvolvimento dos estudos sôbre Doença de Chagas nestes últimos anos;

Considerando que os auxílios que têm sido prestados pelo referido Pôsto a médicos que trabalham no Brasil Central, estimulando-lhes as iniciativas individuais e facilitando-lhes meios, para a realzação de estudos sôbre a moléstia;

Considerando o grande interêsse que representa para nós o problema médico-social da moléstia de Chagas

Os Congressistas abaixo assinados propõem que êste Congresso envie à Diretoria do Instituto Oswaldo Cruz uma Moção de Reconhecimento pelas contribuições feitas para o estudo da Doença de Chagas no Pôsto de Bambuí".

Sala das Sessões, 7 de setembro de 1949.

MÁRIO DE CASTRO MAGALHÃES, Presidente (Araxá)
JOSÉ BERBAMO RIBEIRO (Uberlândia)
MIRON DE MENEZES (Uberlândia)
RUBEM JACOMO (Uberaba)
BOLIVAR CARNEIRO (Uberlândia)
DOMINGOS PIMENTEL DE ULHÔA (Uberlândia)

Lavrado nos seguintes têrmos, o Presidente da Câmara Municipal de Uberaba dirigiu em 25 de novembro de 1949 esta mensagem ao Diretor de Manguinhos Dr. OLYMPIO DA FONSECA:

"Em nome da Câmara Municipal de Uberaba quero apresentar, por vosso intermédio, ao Instituto Oswaldo Cruz, os agradecimentos desta coletividade pela maneira eficiente e valiosa com que essa entidade vem colaborando, neste Município, no combate à Moléstia de Chagas. Os resultados eficientes já obtidos atestam muito bem o zêlo e a dedicação do Instituto Oswaldo Cruz nesta obra tão benemérita, principalmente para as zonas rurais mais expostas à doença. A par dos nossos agradecimentos, queremos solicitar-vos a continuação dêsse notável auxílio que nos vem sendo prestado.

O Presidente da Câmara,

OVÍDIO NICOLAU DE VITO

O Dr. CECÍLIO ROMAÑA, conhecido especialista argentino, Diretor do Instituto de Medicina Regional da Universidade de Tucuman, ao ensejo de sua última estada em Bambuí, em junho de 1950, na qualidade de Coordenador da Repartição Sanitária Panamericana para estudo da esquizotripanose, houve por bem emitir os seguintes conceitos:

"Regreso a Bambuí después de 10 años de haber llegado aqui por primera vez! Desde entonces, mucho ha cambiado el aspecto de la enfermedad de Chagas en el Continente; muchos velos que cubrían el secreto de la enfermedad han caído y muchas vendas que cegaban los ojos de quienes la negaban han sido apartadas. La profilaxis de la enfermedad está en pleno desarrollo en Brasil y en otros paises de América.

Mucho del cambio en el panorama de esta enfermedad se debe a la acción continuada, a la lucha diaria y larga de los hombres de Manguinhos que heredaron el sentido humanista tradicional en el noble Instituto.

El pequeño "brote de Bambuí tuvo particular importancia en los modernos estudios de la tripanosomosis americana siendo sus trabajos, sin duda alguna, los que provocaron el interés de los governantes de este grande País para desarrollar una campaña de lucha contra los *barbeiros,* hoy en pleno desarrollo para la felicidad del siempre postergado y sufrido poblador de los campos de América".

En referência aos estudos sôbre a cardiopatia chagásica conduzidos pela equipe de Bambuí, desejamos registrar ainda duas opiniões sugestivas, que foram expressas ao Presidente do Conselho Nacional de Pesquisas, Almirante ÁLVARO ALBERTO, em setembro de 1951, em apoio à concessão de auxílio para a obtenção de equipamento radiológico e eletrocardiográfico para o Centro, a que já nos referimos. A primeira delas é do Professor OLYMPIO DA FONSECA "Entre os dez postos que atualmente mantém o Instituto Oswaldo Cruz, em vários pontos do território nacional, está o de Bambuí, no Estado de Minas Gerais, Pôsto êsse internacionalmente reconhecido como um dos principais centros de estudos sôbre a doença de Chagas... Nesse Pôsto, se têm realizado estudos de grande importância sôbre a forma aguda e a forma crônica da doença de Chagas. Alguns dêsses estudos se contam entre as mais valiosas contribuições às pesquisa cardiológica em nosso País."

Fig. 17 — Quintanistas da Faculdade Fluminense de Medicina visitaram recentemente o Centro acompanhados pelo Dr. Décio Parreiras, catedrático de Medicina Tropical, tendo tido oportunidade de examinar casos agudos e crônicos de doença de Chagas.

E de acôrdo com o conceito, talvez exagerado, do Professor Carlos Chagas Filho ,seria em Bambuí "onde se tem realizado nestes últimos anos a mais importante etapa da história da cardiologia brasileira."

Apraz-nos consignar, finalmente, uma mensagem dirigida ao Professor Henrique Aragão pelo Professor Décio Parreiras, quando de sua recente ida a Bambuí, conduzindo seleto grupo de quintanistas da Faculdade Fluminense de Medicina (fig. 17), alunos seus da cátedra de Clínica de Doenças Tropicais e infectuosas: "Quero expressar eminente Mestre amigo esplêndida impressão recebida serviços Centro Estudos Bambuí sua brilhante iniciativa e que... vem prestando reais serviços ao Brasil" (4 de setembro de 1955). Não a deixamos por último em obediência apenas à ordem clonológica, mas porque acreditamos que com essa honrosa visita inaugurou-se uma nova fase das atividades do Centro. De fato, foi-lhe pela primeira vez conferida oportunidade para colaborar diretamente com o ensino médico, proporcionando ensejo a um catedrático para ministrar *in loco* ensinamentos valiosos para a formação de seus discípulos, que puderam apreciar diversos aspectos relativos a problemas tão importantes para o país, como sejam a doença de Chagas e a esquistossomose. Dêsse feliz contacto resultaram perspectivas de colaboração com alguns futuros médicos mais inclinados à pesquisa científica, tendo feito ainda o Professor DÉCIO PARREIRAS, cujo exemplo esperamos seja seguido por outros mestres, a promessa de realizar excursões anuais com seus alunos. Poderá, assim, o pequeno Centro, procurar melhor atender à precípuas finalidades do Instituto a que se orgulha de pertencer, sintetizadas por HENRIQUE ARAGÃO (5) como sendo "a pesquisa pura e aplicada, o ensino especializado e a atuação humanitária, nos vastos campos da Biologia e da Medicina."

É certo que o longínquo Pôsto tudo tem feito, dentro de suas modestas possibilidades, para ser digno das tradições de Manguinhos. Eis o que ainda diz dessas tradições o Prof. ARAGÃO (5):

> "É com satisfação que vemos Manguinhos cada vez mais integrado no mesmo rumo, tão elevado, certo e útil à cultura científica brasileira, que foi estabelecido debaixo de tão perfeitas normas e segura visão por OSWALDO CRUZ. OSWALDO sempre aspirou fôsse o seu Instituto um grande centro brasileiro de alta cultura científica pura e aplicada, uma instituição humanitária e uma fonte perene de ensinamentos para os que desejem ingressar, ou já laboram no campo das pesquisas biológicas e da medicina experimental. Desenvolvendo-se dia a dia, ampliando suas atividades na órbita científica e trilhando, sem desfalecimentos, a diretriz imprimida pelo nosso inesquecível Mestre, prossegue Manguinhos suas normas seguras a fim de manter o seu caráter de instituição mater da ciência médica experimental brasileira, e firma-se por isso cada vez mais no conceito da opinião do mundo científico e pública."

PROJEÇÃO NO EXTERIOR E NO PAÍS

Ao Professor HENRIQUE ARAGÃO deve-se ainda o início da projeção que tem alcançado no estrangeiro os trabalhos realizados em Bambuí, que teve lugar em 1946 por ocasião de nosso comparecimento a um Congresso Internacional de Cardiologia:

> "No fim do ano fêz uma rápida viagem ao México o Dr. EMMANUEL DIAS, Chefe da Seção de Inquéritos e Trabalhos de Campo da Divisão de Estudos de Endemias, que foi um dos representantes do Brasil no Con-

gresso de Cardiologia, no qual apresentou trabalhos muito apreciados com os Drs. Laranja e Genard Nóbrega, sôbre as lesões cardíacas na moléstia de Chagas..." (5). Ao escrever-nos para o México, em 4 de novembro de 1946, demonstrou êle seu interêsse pelos aspectos internacionais da doença de Chagas e fêz referência a um projeto de alcance continental:

"Estou curioso por saber dos resultados e impressões sôbre os focos de barbeiros e gambás infectados daí e do Texas. Espero que encontre algum caso agudo ou crônico da moléstia de Chagas em algum dos lugares que vai visitar. Escrevi ao Dr. Packchanian sôbre seu projeto de organização de um comité para cuidar dos assuntos de moléstia de Chagas no continente americano e que seria constituído por diversos especialistas sob a presidência do diretor do Instituto Oswaldo Cruz".

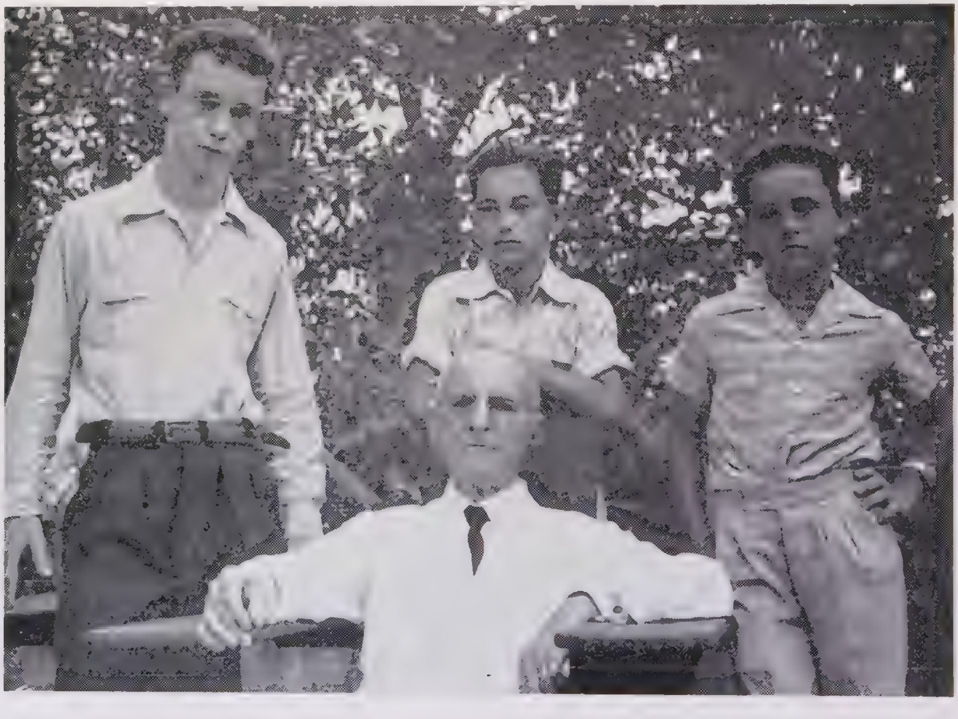


Fig. 18 — Embora tendo deixado a direção ativa da Casa de Oswaldo, Henrique Aragão mantêm-se em contacto com seus antigos colaboradores, que soube transformar em leais amigos e devotados admiradores. (Janeiro de 1956).

Infelizmente êsse projeto ainda não logrou concretizar-se, tendo o mesmo acontecido em relação a tentativas de se obter uma ação nesse sentido por parte da Repartição Sanitária Panamericana (10, 37).

Em virtude do interêsse crescente que foi tomando a doença de Chagas e em atenção às solicitações recebidas pela Diretoria do Instituto,

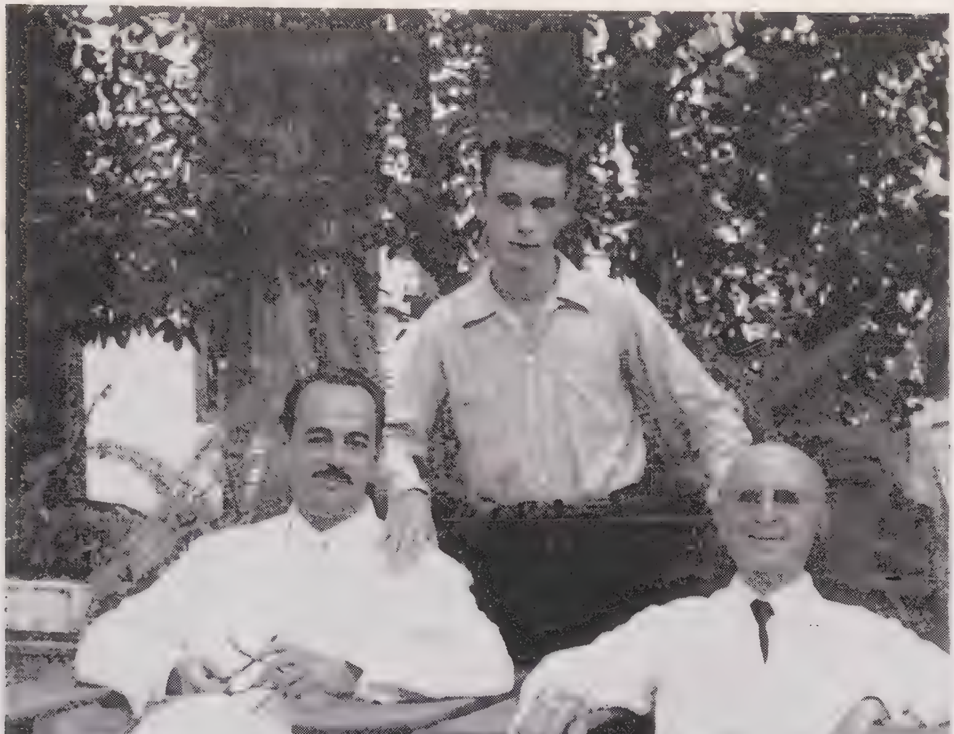


Fig. 19 — O grande Mestre também sabe fazer-se querido e admirado pelos jovens, que se sentem atraídos por sua forte personalidade. Para êles sempre encontra palavras de estímulo e de fé, que os incitam ao esfôrço confiante e idealista pelo futuro da Ciência e da Pátria.

continuou o Professor Aragão a proporcionar-nos, sempre que possível, viagens de representação ao exterior, orientação essa em que foi seguido pelos seus sucessores. Dêsse modo, teve o autor ensejo para participar de diversos congressos e reuniões científicas nacionais e estrangeiras, na maioria dos quais apresentou resultados das pesquisas do Centro de Bambuí sôbre esquizotripanose e, mais tarde, sôbre os estudos sôbre a possibilidade de luta microbiana contra os moluscos transmissores da esquistossomose.

Importa salientar a relevante contribuição prestada pelo Instituto e o Centro na organização da recente Exposição realizada no Palais de la Découverte de Paris sôbre a obra de Carlos Chagas, à qual se deve em grande parte o êxito alcançado pelos esforços do Professor André Leveillé e do Professor Carlos Chagas Filho.

Na quase totalidade dos certames abaixo referidos, foram apresentadas comunicações científicas, conforme as referências bibliográficas iniciadas a seguir.

México

1946 — 2.º Congresso Internacional de Cardiologia, México, D.F. (75)
1947 — 2.º Congresso Mexicano de Medicina, México, D.F. (55)
1948 — 6.ª Conferência dos Diretores Nacionais de Saúde, México, D.F. (20)

Em 1952, o Dr. Francisco Laranja pronunciou conferências no Instituto Nacional de Cardiologia do México e na Sociedade Médica de Cuernavaca.

Estados Unidos

1946 — Escola Médica da Universidade do Texas, Galveston (conferências por E. Dias e F. Laranja).
1948 — 4.º Congresso Internacional de Medicina Tropical e Malária, Washington (51).
1948 — 3.º Congresso Internacional de Cardiologia, Chicago (77).
1948 — Reunião Conjunta da American Society of Parasitologists, American Society of Tropical Medicine, American Academy of Tropical Medicine e National Malaria Society, New Orleans (50, trabalho apresentado por A. Chandler).

Conferências pelo Dr. F. Laranja: 1948, Peter Bent Brigham Hospital, Massachussets General Hospital, serviços dos Professores S. Levine e Paul D. White, Boston; 1954: Hospital da Georgetown University, Washington.

Nicarágua

1946 — Conferência no Clube dos Universitários, Manágua.

Cuba

1952 — 1.º Congresso Interamericano de Higiene, como diretor de debates da Mesa Redonda sôbre Doença de Chagas (10), Havana.

Venezuela

1947 — Conferência na Universidade Central, Caracas (55).

Argentina

1949 — 1.ª Reunião Panamericana sôbre Doença de Chagas, Tucuman, Salta e Jujuy (57).

Conferências pelo Dr. F. LARANJA, 1949 — Hospital Ramos Mejia, serviço do Professor BLAS MOIA; Cátedra de Semiologia, serviço do Professor TIBURCIO PADILLA; Cátedra de Clínica Médica da Universidade de Buenos Aires, serviço do Professor ARRILAGA.

França

1950 — 1.º Congresso Mundial de Cardiologia, Paris (76).
1955 — Visita à Exposição sôbre a Obra de CARLOS CHAGAS, Palais de la Découverte, Paris (cf. 9, 107).

Alemanha

1950 — Cincoentenário do Instituto de Medicina Tropical Bernhardt Nocht, e Freien Vereinigung Deutscher Hygieniker und Mikrobiologen, Hamburgo.

Turquia

1953 — 5.º Congresso de Medicina Tropical e Malária, Istambul (34).

Itália

1953 — 6.º Congresso Internacional de Microbiologia, Roma.

Egito

1953 — Conferência a convite do Fouad I National Research Council, Cairo (34).

União Sul Africana

1954 — 5.ª Reunião do International Scientific Committee for Trypanosomiasis Research, Pretoria e excursão a Moçambique (cf. Jornal do Comércio, 24 e 31 de outubro, 1954 e O Mundo Agrário, março de 1955).

Rio de Janeiro

1946 — 1.º Congresso Interamericano de Medicina (15, 72, 73).
1950 — 5.º Congresso Internacional de Microbiologia (24).

Minas Gerais

1946 — 3.ª Reunião da Sociedade Brasileira de Cardiologia (54), Belo Horizonte.
1949 — 1. Congresso Médico do Brasil Central e 3.º do Triângulo Mineiro, Araxá (23).
1952 — 10.º Congresso Brasileiro de Higiene, Belo Horizonte (32, 52, 53).

Rio Grande do Sul

1951 — 9.º Congresso Brasileiro de Higiene, Pôrto Alegre (47, 48, 63, 64, 70).

São Paulo

1951 — Semana da Doença de Chagas, Serviço do Professor CELESTINO BOURROUL (Conferência sôbre o *Schizotrypanum cruzi*), S.P.

Goiás

1951 — 3.º Congresso Médico do Brasil Central e 5.º do Triângulo Mineiro (64), Goiânia.

VISITANTES

AoCentro de Bambuí são sempre benvindos visitantes técnicos ou leigos, mormente quando tenham interêsse em conhecer os problemas da região e observar ou colaborar, com alguns já têm feito, nas pesquisas ali em curso.

Dentre os visitantes estrangeiros anotamos: HUGO ABITIBOL (Argentina), F. J. BAKER (Estados Unidos), H. BENAIM PINTO (Venezuela), C. J. HACKETT (Inglaterra), C. HAHN (Estados Unidos), ANDRÉ LÉVEILLÉ (França), B. MALAMOS (Grécia), RAFAEL MEDINA (Venezuela), FELIX PIFANO C. (Venezuela), CECÍLIO ROMAÑA (Argentina), MIGUEL A. SUAREZ (Venezuela), G. L. WINDRED (Inglaterra), RODRIGO ZELEDON A. (Costa Rica).

Dentre os brasileiros: A. C. ANDRADE SERPA, MÁRIO ARAGÃO, J. ARANHA CAMPOS, J. BAETA VIANA, M. BORROTCHIN, ARISTÓTELES BRASIL, Z. BRENER, J. BUSTORFF PINTO, C. A. CAMPOS SEABRA, J. CARLOS DE SOUZA, JOEL COELHO, OSWALDO COSTA, E. COSTA AMORIM, A. MARQUES DA CUNHA, M. DIAS TAVARES, ORESTES DINIZ, NIN FERREIRA, OLÍMPIO DA FONSECA FILHO, MÁRIO HUGO LADEIRA, LUIZ LESSA, L. QUEIROGA LAFETÁ, E. MAGALHÃES GOMES, W. LOBATO PARAENSE, TITO LOPES DA SILVA, J. MATOS DE ALMEIDA, BERARDO NUNAN, G. M. OLIVEIRA CASTRO, A. PENNA DE AZEVEDO, HEITOR PRAGUER FROIS, DÉCIO PARREIRAS, MÁRIO PINOTTI, THEÓPHILO PIRES, M. V. DE SÁ, APRÍGIO SALGADO, OLÍMPIO DA SILVA PINTO, FREDERICO SIMÕES BARBOSA, H. C. DE SOUZA ARAÚJO, WALDEMAR VERSIANI, A. VIANA MARTINS, ARLINDO E. VIEIRA, além de estudantes do Curso de Saúde Pública de Belo Horizonte e da Faculdade Fluminense de Medicina, Niterói.

ANÁLISE RESUMIDA DA BIBLIOGRAFIA

As atividades da Seção de Inquéritos e Trabalhos de Campo, da qual depende o Centro de Bambuí, durante os doze anos desde que êste foi fundado versaram sôbre diferentes aspectos da doença de Chagas:

Importância social e médico-sanitária (18, 19, 22, 23), propaganda sanitária e divulgação (12, 17), aspectos gerais (36, 51, 54), distribuição geográfica de vectores, casos e reservatórios animais nas Américas (25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 35, 36, 82), insetos transmissores (40, 42, 46, 50), agente etiológico (24), transfusão sanguínea e seus riscos (21), casuística (16, 45, 52, 58, 59), inquéritos clínico-epidemiológicos no Brasil (47, 48, 53, 56, 57, 71, 92), e no México (62), clínica e terapêutica (55, 70, 73, 74, 75), cardiopatia (76) e evolução de seus conhecimentos (69), cardiopatia experimental (77), profilaxia (13, 14, 15, 20, 37, 51, 60, 61, 63, 64, 93) e relatórios (13, 14).

Em 1952 foram iniciadas investigações sôbre a esquitossomose, que constaram de inquéritos sôbre a incidência desta e de outras helmintoses no município de Bambuí (32, 41) e de tentativas de combate aos planorbídeos por meio de bactérias e outros métodos biológicos (11, 33, 34, 38, 39, 43, 44, 49), assunto sôbre o qual já foi publicado um trabalho na Venezuela, onde foi isolado de caramujos um bacilo semelhante ao *Bacillus pinottii* (104).

Há na lista bibliográfica referências a trabalhos de outros autores para cuja feitura concorreu o Centro de Bambuí, dentre os quais citamos os seguintes sôbre doença de Chagas: casuística (67, 78), serologia (83, 84, 85, 86, 88, 94, 95), eletrocardiografia (7), vacinação (87), anatomia patológica (105, 106); triatomíneos (80, 100); a doença em geral (9); *Telenomus fariai* (90); plasmódios de aves (89), etc. Dela constam algumas publicações do Serviço Nacional de Malária sôbre profilaxia (8, 96, 97, 98, 99, 101, 102). Os trabalhos referidos sob os números 79, 81 e 108 fazem alusões às atividades do Centro de Bambuí e neste particular várias outras indicações ainda poderiam ser feitas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 — Anônimo — 1948
Instituto Oswaldo Cruz.
Arquivos (Serv. Doc., M.E.S.) 1:85-89, reimpr. 17 pp.

2 — ARAGÃO, H. B. R. — 1944
Instituto Oswaldo Cruz. Relatório dos trabalhos realizados durante o ano de 1943.
Impr. Nac., Rio, 51 pp.

3 — Aragão, H. B. R. — 1945
Instituto Oswaldo Cruz. Relatório dos trabalhos realizados durante o ano de 1944.

4 — Aragão, H. B. R. — 1946
Instituto Oswaldo Cruz. Relatório dos trabalhos realizados durante o ano de 1945.
Impr. Nac., Rio, 70 pp.

5 — Aragão, H. B. R. — 1948
Instituto Oswaldo Cruz. Relatório dos trabalhos realizados durante o ano de 1946.
Gráfica Milone Ltda., 52 pp.

5a — Aragão, H. B. R. — 1950
Notícia histórica sôbre a fundação do Instituto Oswaldo Cruz (Instituto Manguinhos).
Mem. Inst. Oswaldo Cruz 48:1-50.

6 — Aragão, H. B. R. — 1954
Carlos Chagas — Diretor de Manguinhos
Mem. Inst. Oswaldo Cruz 51:1-10, dezembro de 1953.

7 — Brasil, A. — 1955
Automical sino-atrial block: a new disturbance of the heart mechanism.
Arq. Brasil. Cardiol. 8 (1):159-212.

8 — Bustamante, F. M. — 1954
Estado atual do programa contra a doença de Chagas.
An. Cát. Hig. 1 (1) : sep., 18 pp.

9 — Buttner, A. — 1955
Un aspect inconnu du Brésil. L'œuvre Carlos Chagas (1879-1934).
Prèsse Méd. 63 (38):809-812; O Hospital 48 (4):509-520.

10 — I Congresso Interamericano de Higiene — 1952
Mesa Redonda: Enfermedad de Chagas. Informe & Recomendaciones.
Memória I Congr. Interam. Hig., Havana, 1953:757-759.

11 — Cruz Filho, O. & Dias, E. — 1953
Bacillus pinottii sp. n.
Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg. 47 (6):581-582.

12 — Dias, Emmanuel — 1944
Doença de Chagas. Noções.
Serv. Nac. Ed. Sanit., M. E. S., Rio, 16 pp.

13 — Dias, E. — 1945.
Um ensaio de profilaxia de moléstia de Chagas. Relatório apresentado ao Diretor do Instituto Oswaldo Cruz, Dr. Henrique de Beaurepaire Rohan Aragão, e ao Chefe da Divisão de Estudos de Endemias, em junho de 1944, sôbre o Centro de Estudos e Profilaxia de Moléstia de Chagas, Bambuí, Minas Gerais.
Impr. Nac., Rio, 116 pp., 81 fig.

14 — Dias, E. — 1946
Profilaxia da Doença de Chagas. Resumo das principais atividades do Centro de Estudos do Instituto Oswaldo Cruz em Bambuí, Minas, durante dois anos.
Brasil. Méd. 60 (18-19):161-163.

15 — Dias, E. — 1946a
Atuação do Instituto Oswaldo Cruz no estudo e empreendimento da profilaxia da doença de Chagas.
I Congr. Interam. Med., Rio, setembro (inédito).

16 — DIAS, E. — 1946b
Acêrca de 254 casos de doença de Chagas comprovadas em Minas Gerais.
Brasil. Méd. 60 (5-6):41-44.

17 — DIAS, E. — 1946c
O "barbeiro" e a doença de Chagas. Carlos Chagas e a grande descoberta de uma nova doença humana .
Eu Sei Tudo, Rio, 30 (4):43-50.

18 — DIAS, E. — 1947
Doença de Chagas: um grande problema de Saúde Pública.
Brasil Méd. 61 (14-15):162-164.

19 — DIAS, E. — 1948
Importância continental da doença de Chagas.
Brasil Méd. 62 (23-24):217-219.

20 — DIAS, E. 1948a
Contrôle das doenças transmitidas pelos triatomas.
Bol. Of. Sanit. Panam. 27:1 160-1 164.
Sexta Conf. Panam. Diretores Nac. Saúde, México, O.S.P.A. publ. n.º 243:123-127 (1950).

21 — DIAS, E. — 1949
Os riscos da propagação da doença de Chagas pelos serviços de transfusão de sangue.
Bol. Of. San. Panam. 28:910-911.

22 — DIAS, E. — 1949a
Considerações sôbre a importância da moléstia de Chagas em Minas Gerais e Estados vizinhos. Necessidade urgente de ser desenvolvido o estudo dessa endemia e de serem tomadas medidas para combatê-la.
Brasil Méd. 63 (34-35):217-220.

23 — DIAS, E. — 1950
Considerações sôbre a doença de Chagas.
O Hospital 37 (2):253-258; Mem. Inst. Oswaldo Cruz 47:679-685.

24 — DIAS, E. 1950a
Validade do gênero *Schizotrypanum* Chagas, 1909.
5.º Congr. Intern. Microbiol., Rio, agôsto.
Resumo dos Trabalhos: 230-231.

25 — DIAS, E. — 1951
Doença de Chagas nas Américas. I — Estados Unidos.
Rev. Brasil. Mal. D. Trop. 3(3):448-472.
(Abstract: J. Paras. 37-5, Sec. 2-:31).

26 — DIAS, E. — 1951a
Doença de Chagas nas Américas. II — México.
Rev. Brasil. Mal. D. Trop. 3 (4):555-570.

27 — DIAS, E. — 1952
Doença de Chagas nas Américas. III — América Central.
Rev. Brasil. Mal. D. Trop. 4 (1):75-84.

28 — DIAS, E. — 1952a
Doença de Chagas nas Américas. IV — Colômbia, Venezuela e Guianas.
Rev. Brasil. Mal. D. Trop. 4 (3):255-280.

29 — DIAS, E. — 1952b
Doença de Chagas nas Américas. V — Equador e Peru.
Rev. Brasil. Mal. D. Trop. 4 (4):320-325.

30 — DIAS, E. — 1953
Doença de Chagas nas Américas. VI — Bolívia e Paraguai.
Rev. Brasil. Mal. D. Trop. 5 (1):11-16.

31 — Dias, E. — 1953a
Doença de Chagas nas Américas. VII — Chile.
Rev. Brasil. Mal. D. Trop. 5 (2):131-136.

32 — Dias, E. — 1953b
Estudos preliminares sôbre a esquistossomose mansoni no Município de Bambuí, Estado de Minas Gerais.
Rev. Brasil. Mal. D. Trop. 5 (3):211-214; Anais X Congr. Brasil. Hig. B. Horizonte: 377-379.

33 — Dias, E. — 1953c
Nova possibilidade de combate aos moluscos transmissores das esquistossomoses.
Empr. Edit. "O Eco", Bambuí, 22 pp.

34 — Dias, E. — 1953d
Bacteriological warfare on the intermediate hosts of human schistosomiasis.
Trab. apresentado ao 5.º Congr. Med. Trop. Mal., Istambul, agôsto-setembro, mimeogr.; Mem. do Inst. Oswaldo Cruz. 52 (2):320-327.

35 — Dias, E. — 1954
Doença de Chagas nas Américas. VIII — Argentina.
Rev. Bras. Mal. D. Trop. 7(1):143-175.

36 — Dias, E. — 1954a
Chagas-Krankheit (Chagas Disease).
Welt-Seuchen Atlas, Falk Verlag, Hamburg, II:135-140.

37 — Dias, E. — 1954b
Comentário al trabajo del Dr. C. Romaña (Enfermedad de Chagas).
C. R. V. Congr. Intern. Med. Trop. Paludisme, Istambul, 1953, 2:644-645.

38 — Dias, E. — 1954c
Nota prévia sôbre ensaios de combate aos Planorbídeos por métodos biológicos e bioquímicos.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz 52 (1):247-252.

39 — Dias, E. — 1954d
Informe ao Conselho Nacional de Pesquisas sôbre investigações relativas a métodos biológicos de combate aos Planorbídeos.
Relatório mimeogr., agôsto, 10 pp.

40 — Dias, E. — 1954e
Índices de infecção dos transmissores da doença de Chagas no Município de Bambuí, Minas Gerais.
Rev. Bras. Mal. D. Trop. 6 (4):607-610.

41 — Dias, E. — 1954f
Incidência da esquistossomose mansoni e outras helmintoses no Município de Bambuí, Minas Gerais.
Rev. Bras. Mal. D. Trop. 6 (4):601-605.

42 — Dias, E. — 1955
Nota sôbre o tempo de evolução de algumas espécies de triatomíneos em laboratório.
Rev. Brasil. Biol. 15 (2):157-158.

43 — Dias, E. — 1955a
Isolamento e seleção de microorganismos de Planorbídeos utilizáveis em ensaios de luta biológica contra êstes invertebrados.
O Hospital 47 (2):111-116.

44 — Dias, E. — 1955b
Alguns resultados de tratamentos de criadouros de *Australorbis glabratus* com melaço.
O Hospital 47 (5):543-555.

45 — Dias, E. — 1955c
Informações acêrca de 300 casos de doença de Chagas com período inicial conhecido, fichados no Centro de Estudos de Bambuí.
O Hospital 47 (6) :647-653.

46 — Dias, E. — 1955d
Variações mensais da incidência das formas evolutivas do *Triatoma infestans* e do *Panstrongylus megistus* no Município de Bmbuí, Minas Gerais.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 53:457-472.

47 — Dias, E. & Brant, T. C. — 1952
Inquérito sôbre a doença de Chagas realizado nas localidades de Pedra Branca e Sertãozinho, Município de Bambuí, Minas Gerais.
Rev. Bras. Mal. D. Trop. 4 (3) :227-230; Anais IX Congr. Bras. Hig., Pôrto Alegre: 267-270.

48 — Dias, E., Brant, T. C. & Santos, R. M. — 1952
Casos de cardiopatia chagásica crônica no Município de Mocóca, Estado de São Paulo.
Rev. Bras. Mal. D. Trop. 4 (2) :184-186; Anais IX Congr. Bras. Hig., Pôrto Alegre: 492-493.

49 — Dias, E. & Dawood, M. M. — 1955
Preliminary trials on the biological snail control with *Bacillus pinottii* in Egypt. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 53:13-29.

50 — Dias, E. & Chandler, A. — 1949
Moléstias humanas transmitidas por hemípteros sugadores. (Human diseases transmitted by parasitic bugs).
Mem. Inst. Oswaldo Cruz 47:403-422, 423-441.

51 — Dias, E. & Laranja, F. S. — 1948
Chagas disease and its control.
IV Intern. Congr. Trop. Med. Mal., Washington; Abstr.: 91-92, Proc. 2:1 159-1 170. Rev. Palud. Méd. Trop. 7 (57) :38, 1949.

52 — Dias, E. & Laranja, F. S. — 1953
Doença de Chagas na infância: dados sôbre a casuística do Pôsto do Instituto Oswaldo Cruz em Bambuí.
Anais X Congr. Bras. Hig., B. Horizonte: 468-470 (ao ser impresso o trabalho a ordem dos autores foi invertida).

53 — Dias, E., Laranja, F. S., Guimarães, F. N. & Brant, T. C. — 1953
Estudo preliminar de inquéritos sorológico-eletrocardiográficos em populações não selecionadas de zonas não endêmicas de doença de Chagas.
Rev. Bras. Mal. D. Trop. 5 (3) :205-210.

54 — Dias, E., Laranja, F. S. & Nóbrega, G. — 1945
Doença de Chagas.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz 43 (3) :495-582.

55 — Dias, E., Laranja, F. S. & Nóbrega, G. — 1948
Clínica e terapêutica de la enfermedad de Chagas.
Med., Rev. Mexicana, 28 (557) :224-236.
Mem. 2.º Congr. Mexicano Med.: 515-553.

56 — Dias, E., Laranja, F. S. & Pellegrino, J. — 1948
Estudos sôbre a importância social da doença de Chagas.
I — Inquérito clínico-epidemiológico feito nas vizinhanças de Bambuí, Oeste de Minas.
Brasil Méd. 62 (49/52) :412-413.

57 — Dias, E., Laranja, F. S. & Pellegrino, — 1950
Inquérito clínico-epidemiológico sôbre doença de Chagas feito entre as estações de Iguatama e Campos Altos, Oeste de Minas.
1.ª Reunión Panamericana sobre Enfermedad de Chgas, Tucuman, 1:33-34.

58 — DIAS, E. & NÓBREGA, G. — 1946
Um caso mortal de doença de Chagas complicado de noma.
Brasil Méd. 60 (20-21):179-182.

59 — DIAS, E. & NÓBREGA, G. — 1946a
Três casos agudos de doença de Chagas observados em Bambuí, Minas.
Arq. de Clín., Rio, 2 (1):54-56.

60 — DIAS, E. & PELLEGRINO, J. — 1948
Alguns ensaios com o "Gammexane" no combate aos transmissores da doença de Chagas.
Brasil Méd. 62 (23-24):185-191.

61 — DIAS, E., PELLEGRINO, J., PINTO, O. S. & CASTRO, J. A. — 1952
Experiência para verificação da duração mínima da ação residual do BHC em habitação.
Anais IX Congr. Bras. Hig., Pôrto Alegre: 396-398.

62 — DIAS, E., PERRIN, T. G. & BRENES, M. — 1947
Nota previa sobre las primeras comprobaciones suerologicas de la enfermedad de Chagas en México.
Arch. Inst. Cardiol., Mex. 17(1):20-24.

63 — DIAS, E. & PINTO, O. S. — 1952
Combate aos triatomas com BHC na cidade de Bambuí, Minas Gerais.
Rev. Bras. Mal. D. Trop. 4 (1):62-64; Anais IX Congr. Bras. Hig., Pôrto Alegre: 376-377.

64 — DIAS, E., PINTO, O. S., PELLEGRINO, J. & CASTRO, J. A. — 1952
Ensaio experimental de luta contra os triatomíneos por meio de inseticidas de ação residual.
Rev. Bras. Mal. D. Trop. 4 (1):22-46; Anais IX Congr. Bras. Hig., Pôrto Alegre: 378-395.

65 — DIAS, E. & ZELEDON, R. — 1955
Infestação domiciliária em grau extremo por *Triatoma infestans*.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 53:473-486.

66 — DIAS, EZEQUIEL — 1922
Traços de Oswaldo Cruz.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz 15 (1):5-57.

67 — DINIZ, O. — 1945
Aspecto dermatológico de um chagôma de inoculação.
Brasil Méd. 59 (33-34):297-298.

68 — KUBITSCHEK, J., — 1955
Programa de Saúde Pública.
L. Nicollini S/A, São Paulo, 57 pp.

69 — LARANJA, F. S. — 951
Evolução dos conhecimentos sôbre a cardiopatia da doença de Chagas. Revisão crítica da literatura.
Mem. Ins. Oswaldo Cruz 47 (3-4):605-669.

70 — LARANJA, F. S. — 1953
Aspectos clínicos da moléstia de Chagas.
Rev. Brasil. Med. 10 (7):482-491.

71 — LARANJA, F. S., DIAS, E., DUARTE, E. & PELLEGRINO, J. — 1951.
Observações clínicas e epidemiológicas sôbre moléstia de Chagas no Oeste de Minas Gerais.
O Hospital 40 (6):945-988.

72 — LARANJA, F. S., DIAS, E. & NÓBREGA, G. — 1946
Estudo eletrocardiográfico de 81 casos de megaesófago.
1.º Congr. Interam. Med., Rio, setembro (inédito).

73 — Laranja, F. S., Dias, E., & Nóbrega, G. — 1946a.
Manifestações clínicas e diagnóstico da cardiopatia aguda da doença de Chagas.
1.º Congr. Interam. Med., Rio ,setembro (inédito).

74 — Laranja, F. S., Dias, E. & Nóbrega, G. — 1948
Clínica e terapêutica da doença de Chagas.
Rev. Bras. Med. 5 (8, 9, 10):591-596, 672-681, 738-749.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz 46: 473-529; La Prensa Méd. Argentina 38 (9), março de 1951.

75 — Laranja, F. S., Dias, E. & Nóbrega, G. — 1948a
O eletrocardiograma na cardiopatia crônica da doença de Chagas.
Brasil Méd. 62 (8-9):51-53.

76 — Laranja, F. S., Dias, E. & Pellegrino, J. — 1950
Chagas' heart disease: a cardiological entity.
I Congrès Mondial de Cardiologie, Paris, Resumés: 302-303.

77 — Laranja, F. S., Pellegrino, J. & Dias, E. — 1948
Experimental Chagas' heart disease.
III Internat. Cardiological Congr., Chicago, Abstr.: 50.

78 — Lasmar, J. E. — 1944
Casos agudos de doença de Chagas em Bambuí, Oeste de Minas Gerais.
Brasil Méd. 58 (23-24):232-233.

79 — Leal, E. — 1946
Recordando a obra de Chagas. Comentários do Brasil Médico.
Reimpr. do Brasil Méd. 59 (48, 49, 50), 60 (3-4, 14-15, 18-19), 19 pp.

80 — Lent, H. — 1954
Comentários sôbre o gênero *Rhodnius* Stal, com a descrição de uma nova espécie do Brasil (Hemiptera, Reduviidae).
Rev. Brasil. Biol. 14 (3):237-247.

81 — Malamos, B. — 1949
Tropical diseases in Brazil.
Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg. 43:11-32.

82 — Mazzotti, L. & Dias, E. — 1949
Resumen de los datos publicado sobre la enfermedad de Chagas en Mexico.
Rev. Soc. Mexicana Hist. Nat. 10:103-111.

83 — Muniz, J. — 1947
Do valor da reação de precipitação no diagnóstico das formas agudas e subagudas da doença de Chagas (Tripanosomiasis americana).
Brasil Méd. 61 (29-30):261-267; Mem. Inst. Oswaldo Cruz 45:537-550.

84 — Muniz, J. — 1950
On the value of "Conditioned hemolysis" for the diagnosis of American trypanosomiasis.
O Hospital 38 (5):685-691.

85 — Muniz, J. & Freitas, G. — 1944
Contribuição para o diagnóstico da doença de Chagas pelas reações de imunidade. I: Estudo comparativo entre as reações de aglutinação e de fixação de complemento.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz 41:303-333.

86 — Muniz, J. & Freitas, G. — 1944
Contribuição para o diagnóstico da doença de Chagas pelas reações de imunidade. II) Isolamento de polissacarídeos de *Schizotrypanum cruzi* e de outros tripanosomídeos, seu comportamento nas reações de precipitação, e fixação do complemento e de hipersensibilidade. Os testes de floculação (sublimado e formol gel).
Rev. Bras. Biol. 4:421-438.

87 — Muníz, J., Nóbrega, G. & Cunha, A. M. — 1946
Ensaios de vacinação preventiva e curativa nas infecções pelo *Schizotrypanum cruzi*.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz 44:529-541.

88 — Muniz, J. & Santos, N. C. F. — 1950
Heterophile antibodies in American trypanosomiasis.
O Hospital 38 () :601-616.

89 — Paraense, W. L. — 1949
Um inquérito sôbre a ocorrência de *Plasmodium juxtanucleare* em Bambuí.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz 47:355-365.

90 — Pellegrino, J. — 1950
Nota sôbre o parasitismo dos ovos de *Triatoma infestans* e *Panstrongylus megistus* pelo microhimenóptero *Telenomus fariai* Costa Lima, 1927.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz 48:669-673.

91 — Pellegrino, J. — 1953
A doença de Chagas em Minas Gerais. Esbôço crítico dos trabalhos publicados até 1951.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz 51:611-668.

92 — Pellegrino, J. & Borrotchin, M. — 1948
Inquérito sôbre a doença de Chagas no Hospital da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte.
Mem. Inst. Osw. Cruz 46:419-457.

93 — Pellegrino, J. & Bbrner, Z. — 1952
Profilaxia de um foco de doença de Chagas nas proximidades de Belo Horizonte (Cidade Industrial).
Rev. Ass. Méd. Minas Gerais 2 (2) :233-250.

94 — Pellegrino, J. & Brener, Z. — 1952
A reação de fixação do complemento na doença de Chagas.
IV — Observações feitas em casos agudos de esquizotripanose.
O Hospital 42:755-761.

95 — Pellegrino, J. & Mesquita, S. — 1947
A reação de fixação do complemento na doença de Chagas.
Brasil Méd. 61 (47-48) :396-401.

96 — Pinotti, M. — 1952
O combate à moléstia de Chagas no Brasil.
Rev. Clin. São Paulo 28 (3-4) :29-40.

97 — Pinotti, M. — 1952a
A situação atual no Brasil da luta contra a mlária e a doença de Chagas.
Rev. Brasil. Méd. 9 (4) :262-267.

98 — Pinotti, M. — 1953
Profilaxia da doença de Chagas no Brasil.
Memória I Congr. Interam. Hig., Havana: 681-688.

99 — Pínotti, M. — 1954
Contrôle da doença de Chagas no Brasil.
Rev. Brasil. Mal. D. Trop. 6:301-310 e V Congr. Internationaux de Méd. Trop. et du Paludisme, Istanbul, 2:631-640.

100 — Pinto, C. & Lent, H. — 1946
Novo hemíptero hematófago do gênero *Panstrongylus* Berg., 1879.
Rev. Brasil. Biol. 6:459-465.

101 — Pinto, O. S. — 1952
Profilaxia da doença de Chagas na bacia do Rio Grande, Estado de São Paulo, por meio de inseticidas.
Rev. Bras. Mal. D. Trop. 4:176-183.

102 — Pinto, O. S. & Bicalho, J. C. — 1952
Profilaxia da doença de Chagas no Estado de Minas Gerais por meio de inseticidas.
Rev. Bras. Mal. D. Trop. 4:145-156.

103 — Romaña, C. & Kirschbaum, M. — 1951
Encuesta sobre enfermedad de Chagas en las vecindades de Andalgalá (Catamarca).
An. Inst. Med. Reg., Tucuman, 3 (2):123-128.

104 — Texera, D. A. & Scorza, J. V. — 1954
Investigaciones sobre una forma bacteriana parecida al *Bacillus pinottiii* en Venezuela con acción patógena sobre el *Australorbis glabratus* Say.
Arch. Venezolanos Patol. Trop. Pars. Méd. 2 (2):235-242.

105 — Torres, C. M. & Duarte, E. — 1948
Miocardite na forma aguda da doença de Chagas.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz 46:759-783.

106 — Torres, C. M. & Duarte, E. — 1950
Lesões do feixe de His-Tawara na cardiopatia chagásica aguda e crônica.
I Reunión Panam. Enf. Chagas, Tucuman, :23-25.

107 — Université de Paris, Palais de la Découverte — 1955
Un aspect inconnu du Brésil. L'oeuvre de Carlos Chagas (1879-1934).
Prèsses de l'Emancipatrice, Paris, 35 pp.

108 — Villela, E. — 1951
Moléstia de Chagas. Algumas aquisições recentes, em especial relativas à profilaxia.
Rev. Brasil. Malariol. e D. Tropicais 3 (1):101-121.

Estudos histológicos das células glandulares dos insetos peçonhentos

IV parte: As cerdas dos espinhos da lagarta de *Sibine nesea*[*]

Rudolf Barth
Instituto Oswaldo Cruz

(Com 8 figuras no texto)

Na terceira parte desta série de observações foram analisadas as áreas glandulares da lagarta de *Sibine nesea* (Barth-Junqueira, no prelo). Além dêstes complexos glandulares esta lagarta ainda possui outros órgãos urticantes, situados nos apêndices em forma de "verrugas" (fig. 1) e cuja distribuição, sôbre o corpo, já foi descrita no citado trabalho. Já um ligeiro contacto da mão provoca uma inoculação das secreções peçonhentas. Nota-se, imediatamente, o forte efeito urticante que ,entretanto, é de curta duração produzindo, em geral, apenas uma hiperemia local; sòmente depois de uma inoculação mais extensa é que se observa uma atrofia temporária das articulações dos dados, em tôrno do ponto de contacto. Não chegaram ao nosso conhecimento casos de formação de vesículas ou de conseqüências exemáticas, condicionadas por esta "tatorana".

A cerda peçonhenta, pròpriamente dita, é representada por um pequeno anexo colocado na extremidade de uma evaginação comprida, em forma de espinho, situada nas saliências verrucosas da parede do corpo, fato já observado nos órgãos urticantes localizados no fim do abdômen desta mesma espécie bem como nos de *Automeris incisa* (Barth, 1954). Na figura 2 está representado, esquemàticamente, um aparelho urticante isolado. A parede da "verruga" (CU_1) é perfurada por um canal (KA) de diâmetro relativamente fino; a parede interna da mesma é revestida por uma camada de hipoderme sincicial que se continua pela parede do corpo. Na parte apical da cutícula espêssa da "verruga", o canal se dilata para formar uma cavidade mais ou menos esférica, que se

---

[*] Recebido para publicação a 15 de Outubro de 1955.

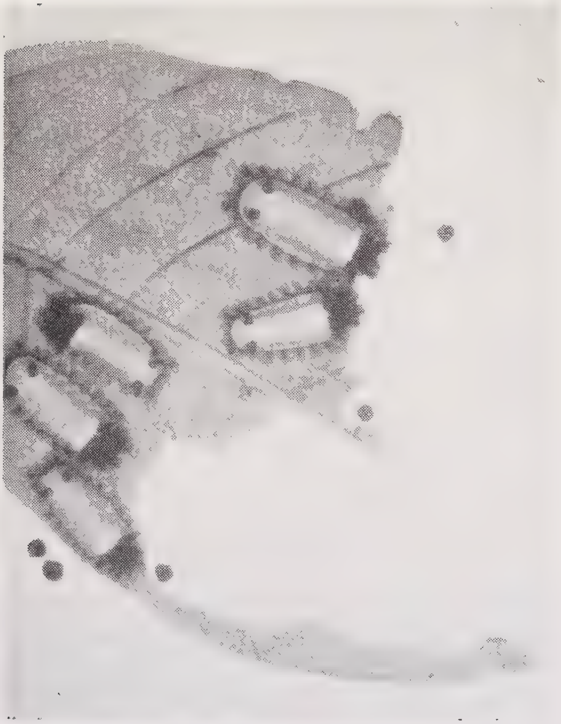


Fig. 1 — Lagarta de *Sibine nesea*. Metade do tamanho natural.

Fig. 1 — Raupen von *Sibie nesea*. Halbe naturalische Groesse.

abre no seu pólo apical dando, assim, passagem para o lúmen da evaginação em forma de cone afilado. Na extremidade apical desta encontramos o espículo peçonhento que, como já foi observado nas formações semelhantes de *Automeris incisa, Megalopyge albicollis* (Barth, 1954), bem como, nas áreas glandulares abdominais de *Sibine nesea,* apresenta uma profunda modificação na membrana de inserção, que está pràticamente ausente, ficando então a sua base em contacto direto com o bordo terminal da evaginação, por um sulco anular. Por meio dêste o ponto de apoio se torna muito sólido e a formação adquire firmeza suficiente para penetrar a epiderme do adversário; ela fecha, outrossim, tôdas as cavidades do órgão urticante.

A hipoderme do canal continua-se pela cavidade esférica, revestindo-a, por tôda a evaginação até atingir, na extremidade desta, o ponto da inserção da cerda. Analisando a membrana basal da hipoderme verificamos que ela não se termina neste ponto mas, que forma um saco comprido, que se origina pela sua volta, para trás, ao longo de tôda a evaginação até o interior da cavidade esférica. No fundo do saco, assim formado, encontra-se uma massa irregular que se cora como a cromatina e, além dela, porções mínimas de protoplasma. Depois de fixação pelo líquido de Bouin, não se pode observar qualquer substância na cavidade formada pela volta da membrana basal, no seu interior se encontra apenas uma camada muito fina de um material protoplasmático que adere à parede e — no centro ou, também, espalhadas sôbre a mesma — algumas granulações espêssas de mesma reação aos corantes que a observada para a cromatina. Depois de uma fixação por OsO_4, tôda a cavidade se mostra cheia por uma substância escura. A interpretação de todo êste conjunto só poderá ser feita acompanhando-se o percurso descrito pela membrana basal: o saco que se forma, acima caracterizado, representa a célula tricogênea que, em virtude da sua atividade glandular cresceu enormemente e, cujo protoplasma se transformou, quase completamente, na secreção urticante. O núcleo, depois da formação dos produtos líquidos se degenera e permanece agora, sob a forma de um corpo amorfo, sem função, no fundo do saco.

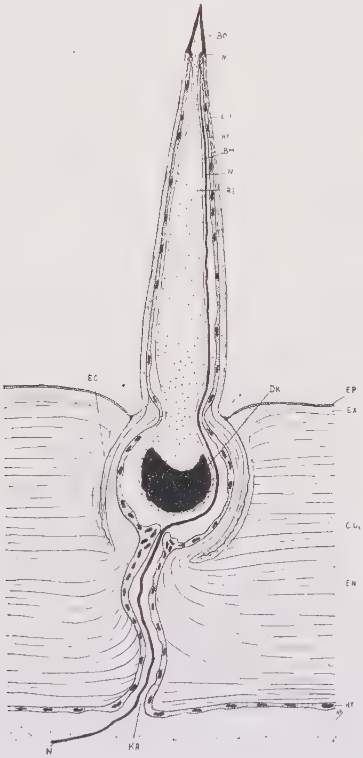
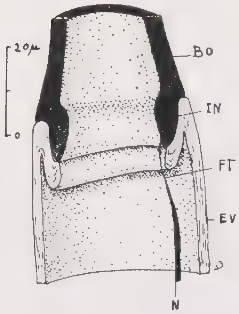


Fig. 2 — Esquema de um órgão urticante, em corte longitudinal.

Fig. 2 — Schema eines Nesselorgans im Laengsschnitt.

Êste fato é de grande interêsse pois indica que a cerda peçonhenta pode exercer a sua função de inoculação uma só vez porque, aparentemente, não se verifica regeneração dentro do órgão urticante. Isto também se conclui pelo fato de, nas fases de muda da cutícula, tôda a hipoderme do canal, da cavidade esférica e da evaginação ser eliminada juntamente com a cutícula antiga o que indica que, por ocasião de cada muda da lagarta, os órgãos urticantes serem formados novamente. Para comprovar esta presunção foram observados os fenômenos que ocorrem durante as mudas (veja abaixo).



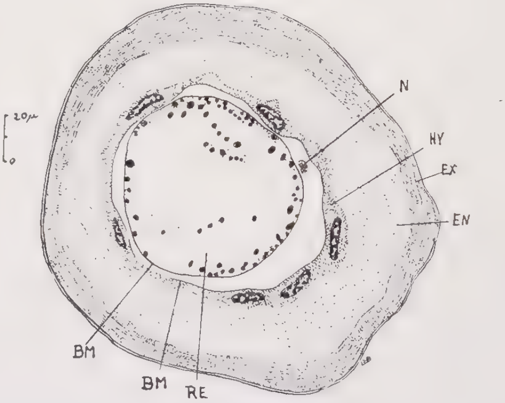


Fig. 3 (a esquerda) — Inserção da cerda peçonhenta (representadas sòmente as partes cuticulares).
Fig. 3 (links) — Insertion der Giftborste (nur cuticulare Teile gezeichnet).

Fig. 4 — Corte transversal na altura média da evaginação com a célula glandular cheia (RE).
Fig. 4 — Querschnitt durch die Mitte der Evagination mit gefuellter Druesenzelle (RE).

O órgão urticante é atravessado em tôda a sua extensão por um nervo (figs. 2 e 3, N) que se estende até à inserção da cerda, inserindo-se ai no bordo basal da mesma, por intermédio de um fio terminal fino (fig. 3, FT). Provàvelmente trata-se de um receptor de estímulos mecânicos (tatís). Tocando-se uma cerda com um cabelo fino, verifica-se imediatamente uma contração intensa da musculatura cutânea da redondeza do espinho inclinando sempre o mesmo, de tal maneira, que a cerda irritada se orienta em direção ao estímulo; ao mesmo tempo os órgãos urticantes da vizinhança se movem, em conseqüência da deformação que vai ter lugar na parede da "veruga", dispondo-se no sentido da irritação. Assim, tocando-se uma cerda lateral observa-se logo uma inclinação de tôda a "veruga" que, saindo da sua posição normal, se coloca de encontro ao estímulo.

Entrando em contacto com a cerda peçonhenta, esta penetra na epiderme do inimigo e se quebra, em geral, no seu ponto da inserção, de modo que o reservatório, ou seja, a cavidade da célula glandular, fica aberta. Ao mesmo tempo há uma diminuição em todo o volume do sistema, pois a cutícula da base da evaginação é flexível em virtude de uma dobra anular que aí se encontra (fig. 2, marcada por *) e que pode ser deslocada, mais ou menos intensamente, para o interior da cavidade esférica, aumentando, assim, a pressão sôbre o líquido peçonhento que então será expelido pelo ponto onde a cerda se rompeu. Evita-se um possível refluxo das secreções para o canal por meio de uma dobra anular da hipoderme, localizada no ponto em que êste se abre na cavidade esférica; aliás, em *Megalopyge albicollis* (Barth, 1954), já se descreveu um dispositivo semelhante, tendente a impedir um refluxo do líquido.

Tôda a cavidade esférica, com exceção de uma camada da endocutícula de espessura variável, é circundada por uma cápsula de exocutícula resistente e elástica. É pouco provável que êste envoltário intracelular exerça uma função protetora, a meu ver, podemos aceitar que a cápsula impede que, durante a picada, a pressão, que surge no interior da esfera, se perca lateralmente sôbre a endocutícula, que tem uma estrutura frouxa, fenômeno que verificado, impossibilitaria uma inoculação da peçonha.

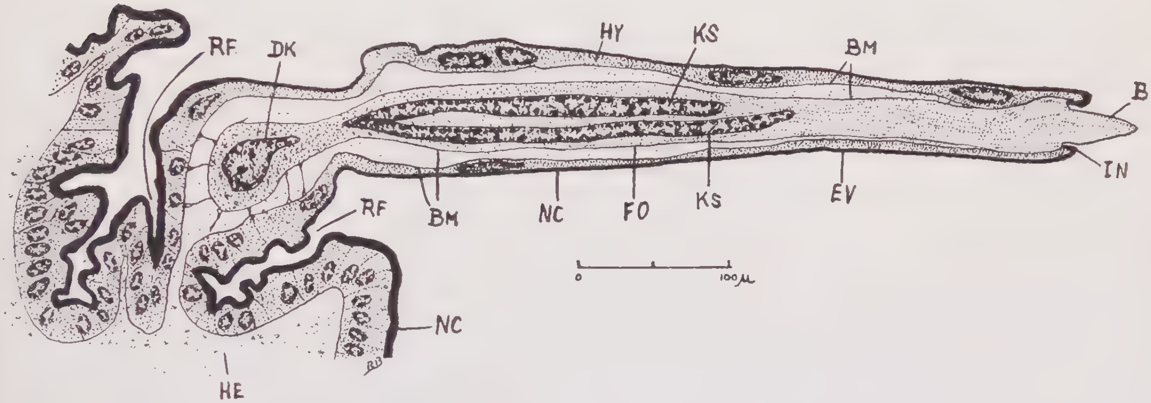


Fig. 5 — Corte longitudinal de um órgão urticante, durante a sua nova formação, por ocasião da terceira muda larval.

Fig. 5 — Laengsschnitt durch ein Nesselorgan waehrend seiner Neubildung bei der dritten Larvenhaeutung.

Como já foi mencionado acima, temos que aceitar que as células glandulares, em plena função, são encontradas apenas durante as fases da muda da cutícula. Na figura 5 é apresentado um corte longitudinal de um órgão urticante, justamente durante a formação da cutícula na terceira muda larval (entre os terceiro e quarto *instar*). A cutícula ainda envolve tôda a lagarta enquanto que a nova está em formação (NC). Examinando a exúvia, que acaba de ser abandonada, verifica-se que nas porções que revestiam as cavidades dos espinhos da cutícula ainda existem partes da hipoderme em plena degeneração e o resto da célula peçonhenta do órgão urticante. A formação da nova evaginação se inicia, como está demonstrado na figura 5, pelas células hipodérmicas que predeterminam os contornos definitivos de todo o conjunto urticante da quarta larva. Em virtude do dobramento de tôdas as partes hipodérmicas, o novo órgão será maior do que o do estádio antecedente. A cavidade esférica destaca-se das outras regiões da cutícula por meio de uma dobra anular profunda (fig. 5, RF). Durante a rápida formação da nova cutícula, as duas epicutículas dos dois lados internos da dobra vão se justapor e são coladas, uma à outra, de maneira que a cavidade esférica fica circundada por uma camada dupla da exocutícula. Durante a formação da endocutícula, muito espêssa, que se segue esta cápsula será incluída pelas lamelas da mesma, enquanto que, em direção ao interior do corpo, se forma o canal (fig. 2, EC).

Durante o estádio representado na figura 5, o corpo da célula glandular está situado no interior da cavidade esférica onde mantém ligação, por anastomoses, da própria membrana basal, com a da hipoderme que reveste a cavidade, fixando-se assim, em posição central. Alguns dêstes feixes de tonofibrilas de ligação estão reforçados por células hipodérmicas (fig. 6, AN). O corpo da célula glandular emite, em direção à sua extremidade, um prolongamento, comprido e largo, que percorre tôda a evaginação até a sua ponta formando aqui um anexo protoplasmático coniforme que originará a futura cerda peçonhenta.

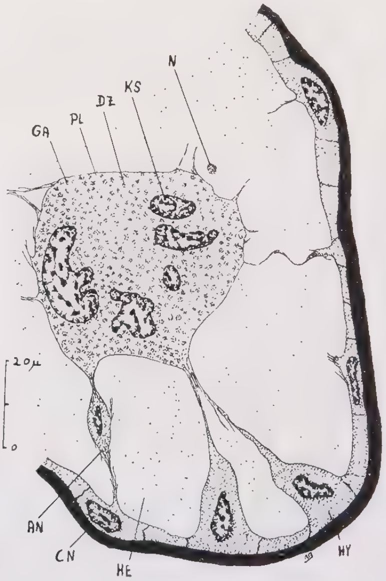


Fig. 6 — Corte transversal da célula glandular, na altura da dobra anular, com uma parte da parede da cavidade esférica (terceira muda larval).

Fig. 6 — Querschnitt durch die Druesenzelle in Hoehe der Ringfalte mit einem Teil der Wand des kugelfoermigen Hohlraums (dritte Larvenhaeutung).

A membrana basal inclui o corpo celular bem como todo o prolongamento, com exceção do seu apêndice, voltando-se a mesma para trás, na altura da inserção da cerda inoculadora, em direção à base, já representada agora, a membrana basal da hipoderme. Esta reveste a evaginação, a cavidade esférica e o canal, prolongando-se, em seguida, para o interior do corpo e continuando-se, aí, na membrana basal da hipoderme dêste. O polo apical, que possui a capacidade de produzir quitina, é representado sòmente por aquela parte que, começando na altura da inserção da cerda peçonhenta, forma o anexo protoplasmático. Durante o processo da formação da nova cutícula que é produzida pela totalidade da hipoderme, verifica-se a segregação concomitante de um cone cuticular constituído por uma quitina fortemente incrustada, na altura do apêndice, transformando-se êste, finalmente, na cerda peçonhenta definitiva.

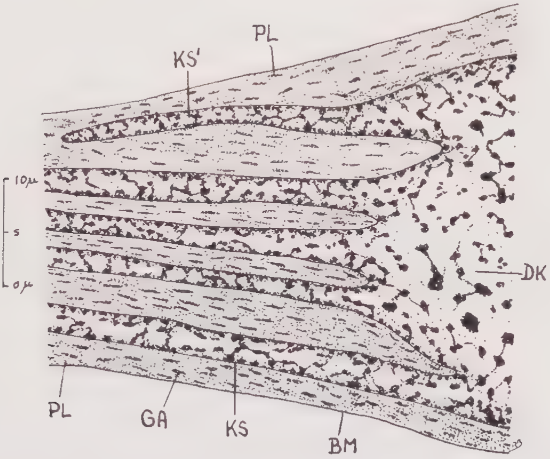


Fig. 7 — Parte de um corte longitudinal da célula glandular, na altura da dobra anular, mostrando a base dos tubos nucleares (terceira muda larval).

Fig. 7 — Teil eines Laengsschnittes durch die Druesenzelle in Hoehe der Ringfalte mit der Basis der Kernschlaeuche (dritte Larvenhaeutung).

O protoplasma da célula glandular (figs. 6 e 7, PL), ou seja, o corpo celular bem como o do anexo, mostra filamentos finos e bem nítidos, orientados paralelamente ao eixo longitudinal. Os filamentos, descrevendo ligeiras curvas, incluem pequenas fendas fusiformes, nas quais se encontram, depois de fixação por ácido pícrico ou sublimado, granulações, em forma de bastões, dispostos também em direção ao eixo longitudinal da célula. Estas formações do citoplasma encontram-se em menor número na parte apical do prolongamento, enquanto que estão ausentes na porção protoplasmática da cerda.

O núcleo da célula glandular é desproporcionalmente volumoso e mostra um extraordinário polimorfismo. Na porção basal da célula êle dá origem a uma formação irregular que ocupa mais da metade desta parte. Da área apical do mesmo nascem 5-6 tubos finos que penetram na evaginação (fig. 3,KS). Dois ou três dêstes já se terminam na porção inicial do prolongamento da célula (fig. 7,KS), enquanto que os outros continuam, com a mesma forma e, se estendem até a inserção da cerda. Num corte transversal, feito no plano apical do corpo basal da célula, constatamos as seções dos 5 tubos (fig. 6), enquanto que num outro, na altura do último quarto da evaginação, existem apenas três. Tôda a cromatina é finamente granulada e muito sôlta, disposta tanto sôbre a parede como no centro do núcleo; no corpo basal dêste encontram-se apenas alguns conglomerados de cromatina de diâmetro maior.

Temos que aceitar que todo o protoplasma da célula será transformado em secreções, conclusão esta à qual se chega pela observação da fase ativa do órgão urticante: o citoplasma da célula, com exceção de pequenos restos, localizados especialmente na parte basal, desaparece e tôda a cavidade celular se apresenta então cheia de secreções, o que se comprova pela fixação por ácido ósmico. Não foi possível esclarecer o que se passa com os tubos nucleares; o corpo basal do núcleo, sem dúvida, degenera, formando um acúmulo cromático irregular; os tubos podem vir a fazer parte da citada massa ou, então, podem desintegrar-se. Esta última presunção torna-se a mais admissível pela presença de partículas, de composição semelhante à da cromatina, encontradas nos órgãos urticantes, após a fixação pelo ácido pícrico e, que estão apresentadas na figura 4.

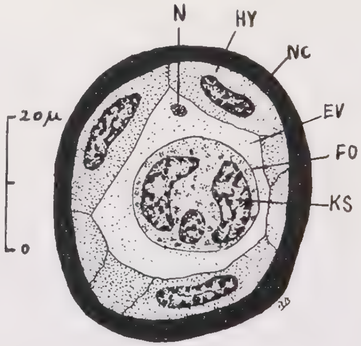


Fig. 8 — Corte transversal da parte apical da evaginação, com três tubos nucleares (KS) no interior do prolongamento (FO) da célula glandular (terceira muda larval).

Fig. 8 — Querschnitt durch den apikalen Teil der Evagination mit drei Kernschlaeuchen (KS) im Inneren des Fortsatzes (FO) der Druesenzelle (dritte Larvenhaeutung).

Relacionando a histologia com a atividade será muito interessante mencionar, que o núcleo do órgão urticante de *Megalopyge albicollis,* também, apresenta um grande polimorfismo e que êle ocupa a maior parte do corpo celular. Mas nesta espécie não se realiza uma transformação de todo o conteúdo da célula glandular em secreções pois, neste caso, existe um reservatório extracelular. Em *Automeris incisa* a polimorfia é mais acentuada mas a quantidade do citoplasma permanece mais ou menos constante pois, o grande reservatório intracelular, ali encontrado, é formado simplesmente por uma dilatação. O órgão de *Sibine nesea* representa, nestes tipos de formações, uma forma extrema na qual, às expensas da quase totalidade do conteúdo da célula, é formado um grande reservatório, intracelular, cheio de secreções.

RESUMO

Descreve-se o órgão urticante das "verugas" do corpo da lagarta de *Sibine nesea*. O órgão é formado por uma evaginação da parede do corpo, em forma de um pêlo forte. Na extremidade do mesmo encon-

tra-se a cerda peçonhenta, pròpriamente dita, muito curta, chamada de cerda inoculadora. A célula glandular, que produz a peçonha, simultâneamente representando a célula tricogênea, ocupa, durante a nova formação do aparelho, nos estádios da muda da cutícula, quase todo o interior da evaginação bem como de uma cavidade esférica situada dentro da cutícula. Ao terminar a muda, todo o citoplasma da célula glandular à transformado em secreções. O núcleo, extremamente polinérgide, degenera nesta ocasião formando um conglomerado amorfo no pólo basal da célula. No momento da picada, a cerda inoculadora rompe-se, na altura da sua inserção, e a pressão exercida sôbre a mesma força a penetração da base da evaginação no interior da cavidade esférica de modo que o volume do órgão diminui e o líquido peçonhento é expelido através o ponto da ruptura da cerda e entra no tecido do inimigo. O núcleo mostra um polimorfismo extremo. A cerda inoculadora é provida de um nervo de modo que a sua célula-mãe exerce três funções: de célula tricogênea, de célula glandular e de célula formadora do sensilo, que recebe estímulos tatis.

BIBLIOGRAFIA

Barth, R., 1954, Estudos histológicos nas células glandulares dos insetos peçonhentos.
I. Os órgãos urticantes da lagarta de Automeris incisa (mit Uebersetzung).
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 52:93-124, 13 figs.

Barth, R., 1954, idem.
II. Os órgãos urticantes da lagarta de Megalopyge albicollis superba (mit Uebersetzung).
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 52:125-147, 6 figs.

Barth, R. et Junqueira, J., em prelo, idem.
III. As áreas glandulares da lagarta de Sibine nesea (mit Uebersetzung).
Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.

ABREVIATURAS NAS FIGURAS

AN	anastomoses	FT	fio terminal
BM	membrana basal	GA	granulações
BO	cerda inoculadora	HE	hemolinfa
CU	cutícula	HY	hipoderme
CU$_1$	cutícula do espinho	IN	inserção
DK	núcleo glandular	KA	canal
DZ	célula glandular	KS	tubos nucleares
EC	cápsula da exocutícula	KS'	tubo nuclear curto
EM	endocutícula	N	nervo
EP	epicutícula	NC	cutícula nova
EV	evaginação	PL	citoplasma
EX	exocutícula	RE	reservatório
FO	prolongamento da célula glandular	RF	dobra anular

Uebersetzung
Histologische Untersuchungeu an den Druesenzellen giftfuehrender Insekten

IV. Teil: Die Borsten der Dornen der Raupe von *Sibine nesea*

Rudolf Barth
Instituto Oswaldo Cruz

(Mit 8 Figuren im Text des Originals)

Im dritten Teil dieser Reihe von Untersuchungen wurden die Druesenfelder am Abdomenende der Raupe von *Sibine nesea* (Barth-Junqueira, im Druck) analysiert. Ausser diesen druesigen Komplexen besitzt diese Raupe weitere Nesselorgane auf den warzenartigen Dornen (Fig. 1), deren Verteilung auf den Koerper schon in der oben genannten Arbeit gekennzeichnet wurde. Schon bei leichter Beruehrung der Dornen mit der Hand erfolgt eine Inokulation des Sekrets. Die Nesselwirkung ist augenblicklich heftig, verringert sich aber schnell und fuehrt im allgemeinen nur zu lokaler Hyperaemie; nur bei starker Inokulation tritt eine voruebergehende Behinderung der naechstgelenen Gelenke ein. Blasenbildung oder exematische Folgen sind mir nach dem Stich dieser "*Tatorana*" nicht bekannt geworden.

Die eigentliche Giftborste ist, wie die der Nesselorgane des Abdomenendes dieser Art und wie die der Dornen von*Automeris incisa* (Barth 1954), nur eine kleine Spitze auf einer langen, dornenfoermigen Evagination der warzenartigen Vorspruenge (Dornen) der Koerperwand. Schematisch ist ein einzelner Nesselapparat in Figur 2 wieder gegeben. Die Wand der Warze (Cu_1) wird von einem englumigen Kanal (KA) durchbrochen, dessen Innenwand von der syncytialen Hypodermis ausgekleidet ist, die in die der allgemeinen Koerperwand uebergeht. Im apikalen Teil der dicken Cuticula der Warze erweitert sich der Kanal zu einem mehr oder weniger kugelfoermigen Hohlraum, der sich apikalwaerts in die dornenfoermige Evagination fortsetzt. An ihrem apikalen Ende findet sich die Insertion der Giftborste, die aehnlich wie bei *Automeris incisa, Megalopyge albicollis* (Barth 1954) und auch bei den abdominalen Druesenfeldern von *Sibine* in der Weise modifiziert ist, dass die Insertionsmembran voellig reduziert wird und die Borstenbasis sich mit einem Ringwulst (Fig. 3) auf den Endrand der Evagination direkt aufsetzt, so dass die Borste ein festes Widerlager erhaelt und beim Stich genuegend Festigkeit besitzt, um die Epidermis des Gegeners zu durchbohren. Die Borste verschliesst das gesamte Hohlraumsystem des Nesselorgans.

Die Hypodermis des Kanals steigt durch den kugelfoermigen Hohlraum, diesen auskleidend, so wie durch die Evagination bis zur Spitze derselben auf und endet an der Insertion der Borste. Verfolgt man jedoch die Basalmembran der Hypodermis, so endet diese nicht hier, sondern bildet einen langen Sack, der durch die ganze Evagination zuruecklaeuft und den kugelfoermigen Hohlraum mehr oder weniger ausfuellt. Am Grunde des Sackes findet sich eine regellose, sich wie Chromatin faerbende Masse und geringe Spuren von Protoplasma. Der Hohlraum dieses Sackes ist nach Fixierung mit Bouin fast leer, nur an der Wand findet sich ein sehr duenner Belag von protoplasma-aehnlichem Material (Fig. 4) und — ebenfalls wandstaendig oder in geringem Masse im Inneren — ein grobkoerniges Material, das dieselben Reaktionen wie Chromatin den Farbstoffen gegenueber zeigt. Nach Fixierung mit Osmiumsaeure ist der ganze Raum schwarz ausgefuellt. Durch den Verlauf der Basalmembran wird die Deutung dieser Bildung erleichtert: der gesamte oben gekennzeichnete Sack ist die trichogene Zelle, die sich bei ihrer spaeteren Druesenfunktion stark vergroessert und deren Protoplasma sich fast voellig in Sekret umgewandelt hat. Der Kern ist nach der Sekretbildung degeneriert und liegt als funktionsloser Rest am Grunde des Sackes.

Dieser Befund ist insofern interessant, dass er uns anzeigt, dass eine Giftborste nur einmal stechen kann, da offensichtlich eine Regeneration innerhalb des Nesselorgans nicht stattfindet. Hierfuer spricht ebenfalls, dass bei Haeutungsstadien mit der alten Cuticula die Hypodermis des Kanals, des kugelfoermigen Hohlraums und der Evagination ebenfalls abgestossen wird. Das bedeutet, dass bei jeder Haeutung der Raupe die Nesselorgane neu gebildet werden muessen. Daraufhin wurden soche Stadien besonders untersucht (s. unten).

Das ganze Nesselorgan wird von einem Nerv durchzogen (Fig. 2 und 3, N), der sich bis zur Insertion der Borste erstreckt und hier mit einem duennen Terminalfaden am Basalrand der Borste ansetzt (Fig. 3, FT). Wahrscheinlich handelt es sich um einen Rezeptor mechanischer Reize. Beruehrt man mit einem Haar eine einzelne Borste, so erfolgt sofort eine kraeftige Kontraktion der den gesamten Dorn umgebenden Hautmuskulatur, die diesen immer so einstellt, dass die beruehrte Borste in Richtung des eintreffenden Reizes orientiert wird, gleichzeitig werden durch die Gestaltsveraenderung des Dorns benachbarte Nesselorgane ebenfalls in Richtung der Stoerung eingestellt. So erfolgt z. B. auf Beruehrung einer seitlichen Borste eine Neigung des gesamten Dorns aus der Senkrecten in Richtung des wahrgenommenen Reizes.

Bei Beruehrung der Giftborste dringt diese in die Haut des Gegners ein und bricht zumeist in ihrer Insertion ab, so dass der Sammelraum des Gifts geoeffnet wird. Da aber der Ansatz der Evagination (Fig. 2 bei*) durch eine Ringfalte dem Druck nachgibt und mehr oder weniger stark in das Innere des kugelfoermigen Hohlraums gedrueckt wird, verringert sich der Inhalt des gesamten Hohlraumsystems, so dass die Giftfluessigkeit an der apikalen Bruchstelle herausgepresst wird. Ein Abfluss der Fluessigkeit in den Kanal wird durch eine ringfoermige Hypodermisfalte am Uebergang vom Kanal zum kugelfoermigen Hohlraum verhindert; ein solches Rueckstromventil wurde fuer *Megalopyge albicollis* in aehnlicher Form bereits beschrieben.

Der ganze kugelfoermige Hohlraum wird, abgesehen von einer wechselnd dicken Schcht der Endocuticula, von einer kapselartigen Lage der harten, elastischen Exocuticula umgeben. Ob diese intracuticulare Huelle eine besondere Schutzfunktion ausuebt, erscheint unwahrscheinlich; es ist anzunehmen, dass sie verhuetet, dass beim Stich der Druck im Inneren der Kugel in die sehr weiche Endocuticula zur Seite ausweichen kann und so eine Inokulation des Gifts verhindert.

Aus den oben erwaehnten Gruenden muessen wir vermuten, dass Druesenzellen im vollen Funktionszustand nur im Haeutungsstadium gefunden werden koennen. In Fig. 5 ist der Laengsschnitt durch ein Nesselorgan dargestellt, das sich in Neubildung der Cuticula waehrend der dritten Larvenhaeutung befindet. Die alte Cuticula (nicht gezeichnet) umhuellt noch das ganze Tier, waehrend die neue Cuticula gerade erst gebildet wird (NC). In den Hohlraeunmen der Evaginationen der alten Cuticula finden sich noch die degenerierten Teile der Hypodermis und der gifbereitenden Zelle des Nesselorgans aus dem beendeten Larvenstadium. Die Neubildung der Evagination erfolgt, wie es deutlich in Fig. 5 zu erkennen ist, durch eine Lage von Hypodermiszellen, die die endgueltigen Formen des Kanals, des kugelfoermigen Hohlraums und der Evagination festlegen. Durch die Faltung aller dermalen Teile wird das neue Organ groesser als das des vorhergehenden Etadiums. Der kugelfoermige Hohlraum wird durch eine tiefe Ringfalte (Fig. 5, RF) von der uebrigen Cuticula abgegrenzt. Bei der weiteren schnellen Bildung der neuen Cuticula legen sich die Epiculticulae beider Innerseiten der Falte aneinander und verkleben, so dass eine doppelte Lage der Exocuticula den Hohlraum umgibt. Bei der anschliessenden Bildung der maechtigen Endocuticula wird diese Kapsel von deren Schichten eingeschlossen, waehrend in Richtung zum Koerperinneren der Kanal gebildet wird. (Fig. 2, EC).

Im Stadium der Figur 5 liegt der Koerper der Druesenzelle im kugelfoermigen Hohlraum, wo er durch Anastomosen der eigenen Basalmembran mit der der den Hohlraum auskleidenden Hypodermis in seiner zentralen Lage gehalten wird. Diese Verbindungsstraenge werden zum Teil von einzelnen Hypodermizellen verstaerkt (Fig. 6, AN). Apikalwaerts bildet der Druesenzellkoerper einen langen kraeftigen Auslaeufer, der die ganze Evagination bis zu ihrem Ende durchlaeuft und hier einen kegelfoermigen protoplasmatischen Anhang bildet, der die Form der Giftborste wiedergibt. Die Basalmembran schliesst den Zellkoerper und seinen Fortsatz bis zum Ende der Evagination ein, nicht dagegen den Anhang der Giftborste, sondern kehrt an der Borsteninsertion wieder zur Basis um und stellt jetzt die Basalmembran der Hypodermis dar. Als solche durchlaeuft sie die Evagination, den kugelfoermigen Hohlraum und den Kanal zur Leibeshoehle, um hier sich in der Basalmembran der Koerperhypodermis fortzusetzen. Der Chitin bildende Pol der Druesenzelle ist somit nur der Teil, der von der Insertion der Borste beginnend der protoplasmatischen Anhang bildet. Beim Fortschreiten der die Cuticula bildenden Phase der gesamten Hypodermis beginnt dieser Anhang mit der Ausbildung eines Cuticularkegels aus spaeter sehr stark inkrustierendem Chitin, das die spaetere Giftborste darstellt.

Das Protoplasma der Druesenzelle (Fig. 6 und 7, PL), sowohl des Druesenkoerpers wie auch des Anhangs, ist in Richtung der Laengsachse deutlich, jedoch sehr fein filamentiert. Die schwach gewundenen Filamente schliessen kleine spindelfoermige Spaltraeume ein, in denen sich nach Behandlung mit sublimat- oder pikrinsaeurehaltigen Fixierungsmitteln staebchenfoermige Granulationen finden (Fig. 7, GR), die ebenfalls in Richtung der Laengsachse orientiert sind. Diese Plasmabildungen finden sich im apikalen Teil des distalen Fortsatzes nur in geringem Masse, waehrend sie im protoplasmatischen Anhang der Borste ganz fehlen.

Der Kern der Druesenzelle ist unverhaeltnismaessig umfangreich und zeigt einen extremen Polymorphismus. Im basalen Zellkoerper bildet er eine unregelmaessige Masse, die mehr als die Haelfte dieses Zellteils einnimmt. Von seiner Apikalflaeche entsendet er 5 oder 6 duenne Schlaeuche in den apikalen Fortsatz hinein (Fig. 7 KS). Von diesen enden zwei oder drei schon bein Uebertritt in die Evagination (Fig. 7 KS'), waehrend die uebrigen sich in der gleichen Form durch die ganze Evagination erstrecken. So finden wir im Querschnitt oberhalb der Apikalflaeche des basalen Zellkoerpers (Fig. 6) die Querschnitte von 5 Kernscklaeuchen; in einem Querschnitt durch das letzte Viertel der Evagination (Fig. 8) jedoch nur noch 3 solcher Kernschnitte. Das Chromatin des gesamten Kerns ist feinkoernig und sehr locker, sowohl wandstaendig wie zentral gelegen; nur im basalen Kernkoerper finden sich einige Chromatinkonglomerate groesseren Durchmessers.

Da im funktionsfaehigen Stadium des Nesselorgans das Protoplasma der gesamten Zelle bis auf unbedeutende Reste an der Zellmembran, besonders im basalen Teil, verschwunden ist und da (nach Fixation mit Osmiumsaeure) der ganze Hohlraum der Zelle mit Sekret angefuellt ist, muss angenommen werden, dass das gesamte Protoplasma der Zelle in Sekret umgewandelt wird. Das Schicksal der Kernschlaeuche ist ungewiss: Der basal Kernkoerper degeneriert und kollabiert zu einer regellosen Chromatinmasse; es ist nicht festzustellen, ob die Kernschlaeuche in die Restmasse mit einbezogen werden oder ob sie an Ort und Stelle zerfallen. Der Befund von chromatinartigen Partikeln in dem mit Prikrinsaeure fixierten Nesselorgan der Fig. 4 deutet auf die letztere Moeglichkeit hin.

Es ist funktionshistologisch sehr interessant zu erwaehnen, dass der Kern des Nessalorgane von *Megalopyge albicollis* ebenfalls einen starken Polymorphismus zeigt und den groessten Teil des Zellkoerpers ausfuellt. Da hier aber ein extracellulaeres Reservatorium gebildet wird, erfolgt keine Umwandlung des gesamten Drueseninhalts in Sekrete. Bei *Automeris incisa* ist die Polymorphie weiter fortgeschritten, doch wird der im apikalen Teil des Protoplasmas gelegene grosse, intracellulaere Sekretsammelraum einfach durch Dillatation gebildet, so dass die Menge des Cytoplasmas mehr oder weniger erhalten bleibt. In dieser Reige stellt das Organ von *Sibine nesea* eine extreme Form dar, in der auf Kosten des ganzen Zellinhalts ein grosser sekretgefuellter, intracellulaerer Sammelraum gebildet wird.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird das Nesselorgan der Koerperwarzen der Raupe von *Sibine nesea* beschrieben. Das Organ besteht aus einer borstenaehnlichen Evagination der Koerperwand, die an ihrer Spitze die eigentliche, sehr kurze Giftborste (Inokulationsborste) traegt. Die Giftdruesenzelle, die gleichzeitig die trichogene Zelle der Borste ist, nimmt waehrend der Neubildung in den Haeutungstadien fast den ganzen Rauminhalt der Evagination und eines basal von ihr in der Cuticula gelegenen kugelfoermigen Raumes in Anspruch. Gegen Ende der Haeutung wird das gesamte Druesencytoplasma in Sekrete umgewandelt. Der hochgradig polyenergide Kern degeneriert waehrenddessen und bildet eine formlose Masse im basalen Zelltil. Beim Stich bricht die Giftborste in ihrer Insertion ab und der ausgeuebte Druck schiebt die Basis der Evagination in den kugelfoermigen Raum, so dass der Rauminhalt des Organs verringert wird und die Giftfluessigkeit aus der Bruchstelle in das Gewebe des Opfers eindringt. Der Kern zeigt einen ausgebildeten Polymorphismus. Die Giftborste ist innerviert, so dass ihre Bildungszelle drei Funktionen ausuebt: als trichogene Zelle, Druesenzelle und Sensillenzelle fuer taktile Reize.

ABKUERZUNGEN IN DEN FIGUREN.

AN	Anastomosen	FT	Terminalfaden
BM	Basalmembran	GA	Granulationen
BO	Giftborste	HE	Haemolymphe
CU	Cuticula	HY	Hypodermis
CU$_1$	Cuticula des Dorns	IN	Insertion
DK	Druesenkern	KA	Kanal
DZ	Druesenzelle	KS	Kernschlaeuche
EC	Exocuticularkapsel	KS'	kurzer Kernschlauch
EM	Endocuticula	N	Nerv
EP	Epicuticula	NC	Neue Cuticula
EV	Evagination	PL	Cytoplasma
EX	Exocuticula	RE	Reservatorium
FO	Fortsatz der Druesenzelle	RF	Ringfalte

As **MEMÓRIAS**, órgão oficial do Instituto Oswaldo Cruz, destinam-se, precìpuamente, à publicação de trabalhos originais nêle realizados. Aparecerão em fascículos distintos, ou em tomo completo, conforme as conveniências editoriais.

Tôda a correspondência deverá ser dirigida à

MEMÓRIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
CAIXA POSTAL 926 – ENDERÊÇO TELEGRÁFICO: "MANGUINHOS" RIO
RIO DE JANEIRO – BRASIL

SERVIÇO GRAFICO
IBGE
RIO DE JANEIRO-BRASIL